



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΣΤΕΡΕΑΣ ΕΛΛΑΔΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ
ΜΕ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΗ**

**«Διερεύνηση της συσχέτισης πολυμορφικών γονιδίων με ασθένειες :
εφαρμογή στο σακχαρώδη διαβήτη»**

Παπαδημητρίου Κωνσταντίνα

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Υπεύθυνος

**Ιωαννίδης Αναστάσιος
Επίκουρος καθηγητής**

Λαμία, 2010



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΣΤΕΡΕΑΣ ΕΛΛΑΔΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΜΕ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ
ΣΤΗ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΗ**

«Διερεύνηση της συσχέτισης πολυμορφικών γονιδίων με ασθένειες :
εφαρμογή στο σακχαρώδη διαβήτη»

Παπαδημητρίου Κωνσταντίνα

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Επιβλέποντες καθηγητές:
Ιωαννίδης Αναστάσιος
Μπάγκος Παντελής

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ:

Πρόλογος:	5
Περίληψη:	6
Abstract:	7
ΕΙΣΑΓΩΓΗ:	8
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ	9
1.1) Τι είναι ο σακχαρώδης διαβήτης;	9
1.1.1) Τα συμπτώματα, οι παράγοντες ανάπτυξης και η αντιμετώπιση του σακχαρώδη διαβήτη:	10
1.1.2) Σημερινή πραγματικότητα:	11
1.1.3) Πολυμορφισμοί ενός νουκλεοτιδίου (SNPs, single nucleotide polymorphism):	12
1.2) Ινωδόλυση (fibrinolysis)	13
1.2.1) PAI-1 (Plasminogen Activator Inhibitor 1):	14
1.2.2) Πολυμορφισμός 4G/5G στο γονίδιο PAI-1:	14
1.3) Μεθοδολογία:	15
1.3.1) Μετά-ανάλυση (meta-analysis):	15
1.3.2) Η «δύναμη» της μετά-ανάλυσης	16
1.3.3) Η έννοια της αθροιστικής μετά-ανάλυσης (cumulative meta-analysis)...	16
1.3.4) Γενικά για τη διαδικασία της μετά-ανάλυσης	16
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	18
2.1) Αναζήτηση στη βιβλιογραφία	19
2.2) Εισαγωγή στην «αναλογία πιθανοτήτων (odds ratio) »	20
2.3) Σταθμισμένη μέση διαφορά για τα συνεχή δεδομένα	24
2.4) Μοντέλα στατιστικής ανάλυσης:	25
2.4.1) Μοντέλο σταθερών επιδράσεων (fixed effect model):	25
2.4.2) Έλεγχος ετερογένειας	26
2.4.3) Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (random effect model):	29
2.5) Προβλήματα βιβλιογραφίας	31
2.5.1) Ξενόγλωσση βιβλιογραφία:	31
2.5.2) «Γκρίζα» βιβλιογραφία:	32
2.5.3) «Το φαινόμενο του Πρωτέα»:	32
2.6) Έλεγχος Ισορροπίας Hardy-Weinberg (HWE):	35
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	37
3.1) Αναζήτηση στη βάση δεδομένων της Pubmed:	38
3.2) Μετά-ανάλυση με χρήση του προγράμματος STATA10	39
3.2.1) Μετά-ανάλυση στα διακριτά χαρακτηριστικά	40
3.2.2) Μετά-ανάλυση στα συνεχή χαρακτηριστικά:	49
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	64
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	66
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	70
6.1) Άρθρα που απορρίφθηκαν:	71
6.2) Αποτελέσματα για το διαβήτη	73
6.2.1) Μετά-ανάλυση:	73
6.2.2) Αποτελέσματα για το σφάλμα δημοσίευσης:	82
6.2.3) Αποτελέσματα για το φαινόμενο του Πρωτέα:	86
6.3) Αποτελέσματα για τη γλυκόζη:	89
6.3.1) Μετά-ανάλυση:	89
6.3.2) Αποτελέσματα για το σφάλμα δημοσίευσης:	98

6.3.3)Αποτελέσματα για την ύπαρξη του φαινομένου του Πρωτέα.....	100
6.4)Αποτελέσματα για την ινσουλίνη:	102
6.4.1)Μέτα-ανάλυση:.....	102
6.4.2) Αποτελέσματα για το σφάλμα δημοσίευσης:	108
6.4.3)Αποτελέσματα για το «φαινόμενο του Πρωτέα»:	112
6.5)Αποτελέσματα ελέγχου για την ισορροπία Hardy-Weinberg:.....	114

Πρόλογος:

Η παρούσα πτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε στο τμήμα Πληροφορικής με εφαρμογές στη Βιοιατρική του Πανεπιστημίου Στερεάς Ελλάδας από τον Οκτώβριο 2008 έως Ιανουάριο του 2010. Η υλοποίησή της πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια των υπεύθυνων καθηγητών.

Πιο συγκεκριμένα, θα ήθελα να ευχαριστήσω:

- Τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Ιωαννίδη Αναστάσιο επί τηρεία με βάση το ΠΔ 407/80, Επίκουρο Καθηγητή Γενετικής του Πανεπιστημίου Στερεάς Ελλάδας, ο οποίος μου παρείχε χρήσιμες πληροφορίες, συμβουλές και βοήθεια για να υλοποιήσω το κείμενο της πτυχιακής μου εργασίας.
- Τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Παντελή Μάγκο, Επίκουρο Καθηγητή του Πανεπιστημίου Στερεάς Ελλάδας, ο οποίος με τη συνεχόμενη διδασκαλία του καθόλη την διάρκεια της εκπόνησης αυτής της πτυχιακής με βοήθησε να αποπερατώσω το πρακτικό της τμήμα που αφορούσε την επεξεργασία δεδομένων στο τομέα της Βιολογίας και Βιοπληροφορικής.
- Την τριμελή εξεταστική επιτροπή που απαρτίζεται από τους κ. Ιωαννίδη Αναστάσιο, κ. Παντελή Μάγκο για τον πολύτιμο χρόνο που μου αφιέρωσαν.
- Την υπεύθυνη της βιβλιοθήκης κ. Αλεξάνδρα Μίγκου, η οποία παρείχε την πολύτιμη βοήθειά της στη διαδικασία εύρεσης κάποιων άρθρων που σχετίζονταν με την πτυχιακή εργασία.

Περίληψη:

Το PAI-1 είναι ο βασικός ρυθμιστής της δραστηριότητας του ινωδολυτικού συστήματος (fibrinolytic system), που είναι ένας σημαντικός προστατευτικός μηχανισμός ενάντια στη θρόμβωση. Ο πολυμορφισμός 4G/5G στον υποκινητή του γονιδίου PAI-1 φαίνεται να έχει λειτουργική σημασία στη ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου αυτού. Ο πολυμορφισμός 4G/5G βρίσκεται στη θέση -675 ζευγάρια βάσεων προς τα πάνω από την αρχή της περιοχής μεταγραφής του PAI-1 και χαρακτηρίζεται από μια ενιαία εισαγωγή/διαγραφή γουανίνης, με συνέπεια δύο αλληλόμορφα γονίδια να περιέχουν είτε 4 είτε 5 γουανίνες σε μια σειρά (4G/5G).

Η ύπαρξη του πολυμορφισμού 4G/5G έχει αποδειχθεί ότι συσχετίζεται με κάποιες ασθένειες, όπως το έμφραγμα του μυοκαρδίου (myocardial infarction MI) και διάφορες καρδιαγγειακές νόσους (cardiovascular disease). Στη παρούσα εργασία, διερευνήθηκε η σχέση μεταξύ του σακχαρώδη διαβήτη με αυτόν το πολυμορφισμό. Πέραν της διερεύνησης αυτής, όμως, διεξήχθη, επιπλέον, η διερεύνηση της σχέσης και δύο άλλων μορίων του αίματος (γλυκόζης και ινσουλίνης) με τον πολυμορφισμό. Η διερεύνηση αυτών των σχέσεων πραγματοποιήθηκε με τη διαδικασία της μετά-ανάλυσης.

Η μελέτη διεξήχθη σε πληθυσμούς ασθενών (διαβητικοί) και υγιών ατόμων. Η μετά-ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα STATA10.

Τα αποτελέσματα των μετά-αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν, έδειξαν πως δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του σακχαρώδη διαβήτη και του συγκεκριμένου πολυμορφισμού. Ενώ βρέθηκε συσχέτιση του πολυμορφισμού 5G/5G με τη γλυκόζη και την ινσουλίνη στα λευκά άτομα αλλά και στο σύνολο όλων των πληθυσμών.

Abstract:

The PAI-1 is the basic regulator of activity of fibrinolytic system, that is a important protective mechanism against the thrombosis. Polymorphism 4G/5G in the instigator of gene PAI-1 appears to have functional importance in the regulation of this expression of gene. Polymorphism 4G/5G is found in place -675 pairs of bases to above the beginning of region of transcription the PAI-1 and it is characterized by a single insertion/deletion guanine, so that two allelomorphic genes contain or 4 or 5 guanines in a line (4G/5G).

The existence of polymorphism 4G/5G has been proved that it is connected with certain illnesses, as the in myocardial infarction (MI) and cardiovascular disease. In this work, will be investigated the relation between diabetes with this polymorphism. Except this investigation, however, will be carried out, moreover, investigation of relation two molecules of blood (glucose and insulin) with this polymorphism. Their investigation was realised with the process of meta-analysis.

The study was realized in populations of patients (diabetic) and healthy individuals. The meta-analysis of data was realised with statistical program STATA10.

The results of analyses that became, showed that does not exist cross-correlation between the diabetes and the particular polymorphism. While was found cross-correlation of polymorphism 5G/5G with glucose and the insulin in the white individuals but also in its entirety the all populations.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ:

Στη σημερινή εποχή, όπου η τεχνολογία, οι θετικές επιστήμες αλλά κυρίως ο κλάδος της γενετικής εξελίσσονται με ταχύτατο ρυθμό, η διάγνωση, η πρόγνωση και η θεραπεία μίας ασθένειας δεν φαντάζει αδύνατη και μακρινή.

Σε παγκόσμια κλίμακα, οι άνθρωποι ταλαιπωρούνται από ασθένειες μερικές από τις οποίες έχουν γενετική βάση. Τέτοιες ασθένειες είναι το έμφραγμα του μυοκαρδίου ή γενικότερα τα καρδιαγγειακά νοσήματα, η παχυσαρκία και ο σακχαρώδης διαβήτης.

Στην παρούσα εργασία η ασθένεια που θα εξετάσουμε είναι ο σακχαρώδης διαβήτης. Η συχνότητα εμφάνισής του αυξάνεται διαρκώς αυξάνοντας το δείκτη θνησιμότητας σε παγκόσμιο επίπεδο. Ο σακχαρώδης διαβήτης ταξινομείται σε τρεις κύριους τύπους:

- **Ο διαβήτης τύπου 1** (το πάγκρεας σταματά να παράγει ινσουλίνη).
- **Ο διαβήτης τύπου 2** (η παραγόμενη ινσουλίνη δεν βρίσκεται σε ικανοποιητικά επίπεδα).
- **Ο διαβήτης κύησης** [χαρακτηρίζεται από ταυτόχρονη ελαττωμένη έκκριση ινσουλίνης και ελαττωμένη ευαισθησία των κυττάρων στην ινσουλίνη (μοιάζει με το διαβήτη τύπου 2) και εμφανίζεται πρώτη φορά κατά την εγκυμοσύνη].

Εξαιτίας της προόδου της γενετικής, δόθηκε η δυνατότητα να μελετηθούν γονίδια που ενδεχομένως συσχετίζονται με την εμφάνιση ή την εξέλιξη κάποιας ασθένειας. Στη σύγχρονη βιβλιογραφία υπάρχουν πολλές μελέτες οι οποίες διερευνούν τις τυχόν συσχετίσεις γονιδίων με ασθένειες όπως είναι η παχυσαρκία, τα καρδιαγγειακά νοσήματα ακόμη και ο καρκίνος.

Στόχος αυτής της εργασίας είναι η διερεύνηση της συσχέτισης μεταξύ:

- σακχαρώδη διαβήτη με το πολυμορφισμό 4G/5G που βρίσκεται στον υποκινητή του γονιδίου PAI-1,
- των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα με το πολυμορφισμό 4G/5G στους ασθενείς και στους υγιείς,
- των επιπέδων ινσουλίνης στο αίμα με το πολυμορφισμό 4G/5G στους ασθενείς και στους υγιείς.

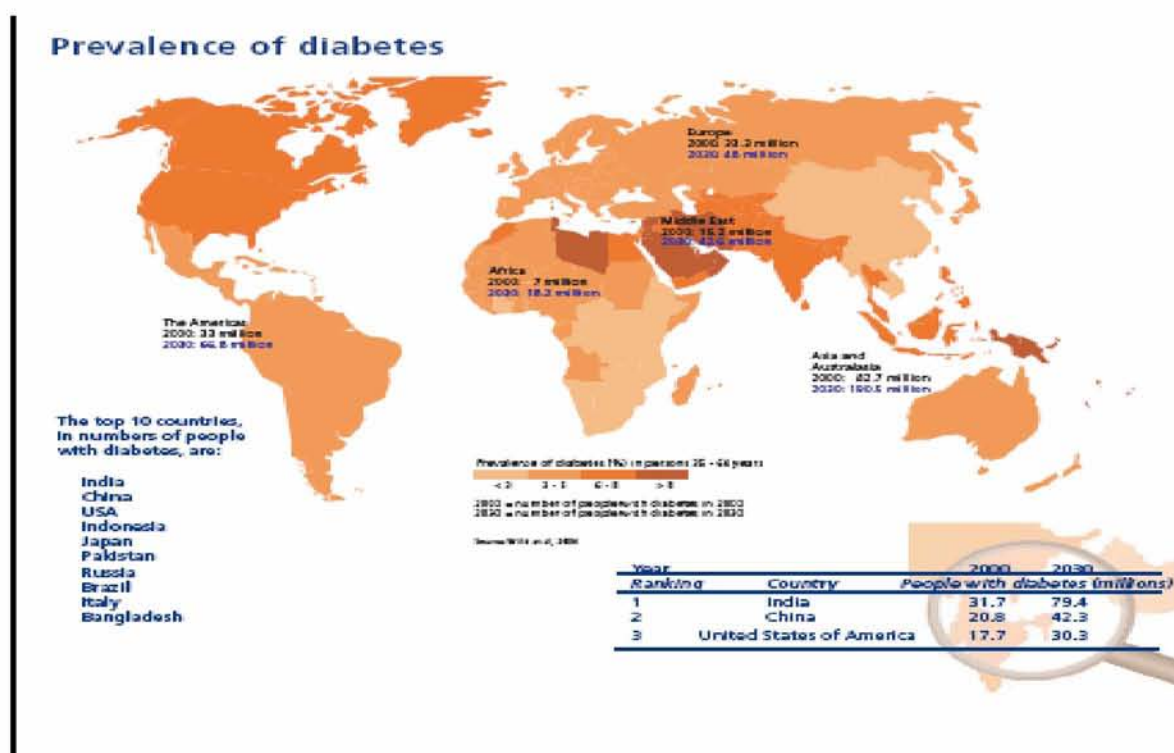
Η μέθοδος με την οποία πραγματοποιήθηκε η διερεύνηση αυτή ήταν μέσω της διαδικασίας της μετά-ανάλυσης την οποία παρείχε το στατιστικό πακέτο του STATA10.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1:ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ

1.1) Τι είναι ο σακχαρώδης διαβήτης;

Ο διαβήτης είναι μία μεταβολική ασθένεια η οποία χαρακτηρίζεται από αύξηση της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο αίμα (υπεργλυκαιμία) και οφείλεται είτε στην ελαττωμένη έκκριση της ινσουλίνης είτε στη μειωμένη ευαισθησία των κυττάρων του σώματος σε αυτήν. Οι κύριοι τύποι σακχαρώδους διαβήτη είναι ο διαβήτης τύπου 1, ο διαβήτης τύπου 2 και ο διαβήτης της κύησης. Στο διαβήτη τύπου 1, το πάγκρεας δεν παράγει καθόλου ινσουλίνη. Ο τύπος αυτός εμφανίζεται στο 10% με 15% των περιπτώσεων (βλέπε εικόνα 1) . Η πλειοψηφία των διαβητικών έχει τον τύπο 2 της ασθένειας, στον οποίο η ινσουλίνη παράγεται σε μικρότερα ποσά από ότι απαιτείται, ή δεν επιδρά με αποτελεσματικότητα. Η μορφή αυτή του διαβήτη είναι αποτρέψιμη, επειδή συσχετίζεται με τη φυσική αδράνεια και την παχυσαρκία. Οι διαβητικοί τύπου 1 χρειάζονται εγχύσεις ινσουλίνης για τη ρύθμιση της γλυκόζης του αίματος, ενώ οι διαβητικοί τύπου 2 συνήθως όχι [1].

Τουλάχιστον οι μισοί από όλους τους διαβητικούς είναι απληροφόρητοι για την ασθένειά τους. Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μία χρόνια νόσος που προκαλεί μια σειρά σοβαρών επιπλοκών όπως: καρδιαγγειακά νοσήματα, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, βλάβες στον αμφιβληστροειδή, πολυνευροπάθεια, στυτική δυσλειτουργία κ.ά [2].



Εικόνα 1:Ποσοστό διαβητικών σε παγκόσμια κλίμακα[1]

Αναλύοντας περαιτέρω τους τύπους του διαβήτη:

Ο διαβήτης τύπου 1: Χαρακτηρίζεται από καταστροφή των β-κυττάρων του παγκρέατος, που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή ινσουλίνης, με αποτέλεσμα ολική έλλειψη ή ελάχιστη έκκριση ινσουλίνης. Η ευαισθησία των κυττάρων στην ινσουλίνη είναι συνήθως φυσιολογική, ιδιαίτερα στα πρώιμα στάδια. Ο τύπος αυτός αποτελεί την κυριότερη αιτία διαβήτη σε παιδιά, μπορεί όμως να προσβάλλει και τους ενήλικες. Η καταστροφή των β-κυττάρων του παγκρέατος είναι στην πλειοψηφία των περιπτώσεων αυτοάνοσης αιτιολογίας. Ο ασθενής είναι απόλυτα εξαρτημένος από τη εξωγενή χορήγηση ινσουλίνης προκειμένου τα επίπεδα γλυκόζης του αίματος του να διατηρούνται σε φυσιολογικά επίπεδα. [2]

Ο διαβήτης τύπου 2: Χαρακτηρίζεται από το συνδυασμό της ελαττωμένης έκκρισης της ινσουλίνης και ελαττωμένης ευαισθησίας των κυττάρων στη δράση αυτής (φαινόμενο που ονομάζεται ινσουλινοαντοχή). Στα πρώτα στάδια της νόσου, η ελαττωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη είναι η κύρια διαταραχή, ενώ τα επίπεδα ινσουλίνης στο αίμα είναι αυξημένα. Ο διαβήτης τύπου 2 είναι η συχνότερη αιτία διαβήτη στους ενήλικες. Σπουδαίος προδιαθεσικός παράγοντας για την ανάπτυξη διαβήτη τύπου 2 είναι η παχυσαρκία. Η παχυσαρκία προδιαθέτει στην ανάπτυξη ινσουλινοαντοχής πιθανόν λόγω της παραγωγής από το λιπώδη ιστό ουσιών που ελαττώνουν την ευαισθησία των κυττάρων στην ινσουλίνη. Άλλοι προδιαθεσικοί παράγοντες είναι η ηλικία και το οικογενειακό ιστορικό. [2]

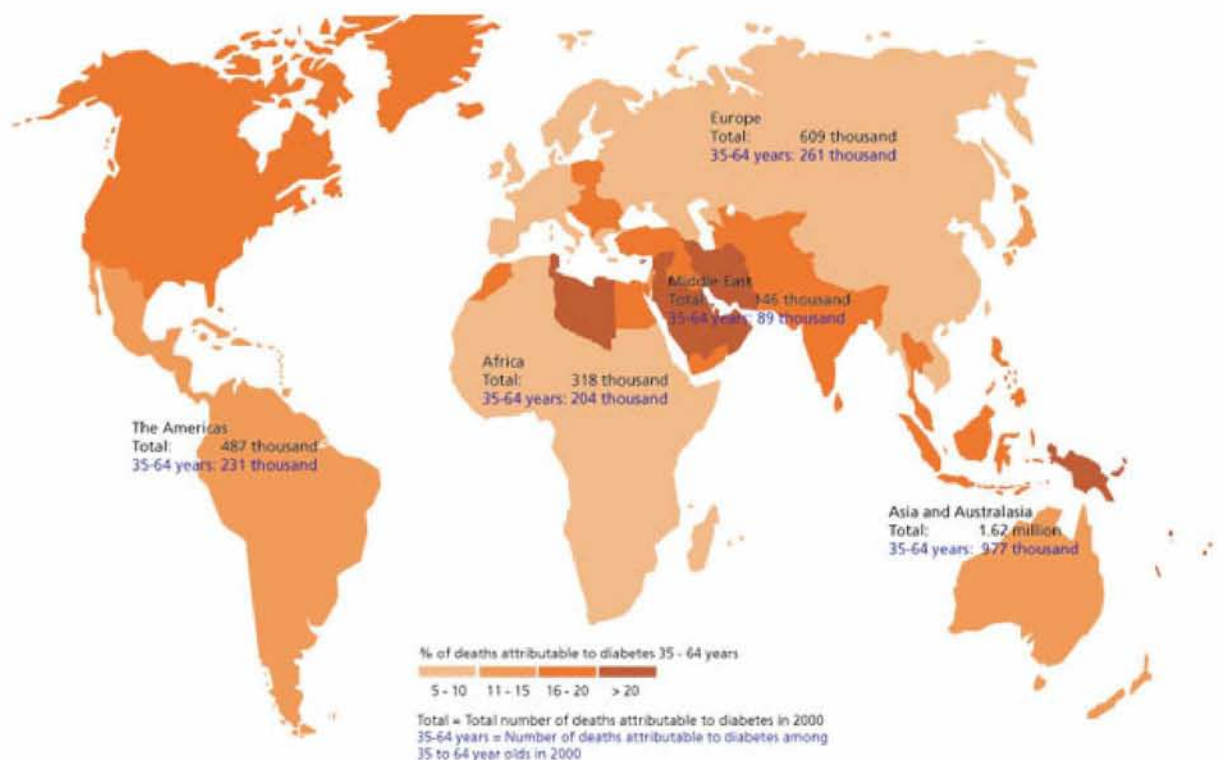
Ο διαβήτης κύησης: Εμφανίζεται για πρώτη φορά κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης (δεν συμπεριλαμβάνονται στον ορισμό γυναίκες με γνωστό διαβήτη πριν την έναρξη της εγκυμοσύνης). Ο τύπος αυτός μοιάζει με το διαβήτη τύπου 2 ως προς το ότι χαρακτηρίζεται από ταυτόχρονη ελαττωμένη έκκριση ινσουλίνης και ελαττωμένη ευαισθησία των κυττάρων στην ινσουλίνη. Οι παχύσαρκες γυναίκες είναι πιο πιθανό να αναπτύξουν διαβήτη κύησης. Ο διαβήτης κύησης είναι αναστρέψιμος και υποχωρεί μετά τον τοκετό, μπορεί όμως να προκαλέσει προγεννητικές επιπλοκές και προβλήματα στην υγεία μητέρας και του νεογνού. [2]

1.1.1) Τα συμπτώματα, οι παράγοντες ανάπτυξης και η αντιμετώπιση του σακχαρώδη διαβήτη:

Η κλασική συμπτωματολογία του σακχαρώδους διαβήτη περιλαμβάνει: πολυουρία, πολυδιψία, πολυφαγία και απώλεια σωματικού βάρους. Για κάθε ένα τύπο, ωστόσο, η συμπτωματολογία διαφέρει. Πιο συγκεκριμένα: Στον διαβήτη τύπου 1, η εισβολή της νόσου είναι συνήθως απότομη με ναυτία, εμετούς, διάχυτο κοιλιακό άλγος και απώλεια συνείδησης. Στον διαβήτη τύπου 2, η νόσος εισβάλλει βαθμιαία, πολυφαγία παρατηρείται σπανιότερα, ενώ συχνά συνυπάρχουν αδυναμία, κόπωση, ζάλη και ευπάθεια σε λοιμώξεις. Συχνά, η συμπτωματολογία στον διαβήτη τύπου 2 απουσιάζει τελείως και ο ασθενής αισθάνεται υγιής. [2] Η πιθανότητα ανάπτυξης επιπλοκών λόγω του σακχαρώδους διαβήτη μειώνεται όσο καλύτερα ρυθμίζονται οι τιμές της γλυκόζης στο αίμα. Μια σειρά παραγόντων, όπως το κάπνισμα, τα αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης, η παχυσαρκία, η αρτηριακή υπέρταση και η καθιστική ζωή, επιταχύνουν την ανάπτυξη επιπλοκών. [2]

Για την αντιμετώπιση του διαβήτη, πολύ σημαντικό ρόλο παίζει η εκπαίδευση του διαβητικού ασθενούς όσον αφορά τη διατροφή που πρέπει να ακολουθεί, τον έλεγχο της γλυκόζης από τον ίδιο και την φαρμακευτική αγωγή που απαιτείται. Η στρατηγική αντιμετώπισης έχει ως στόχο αφενός τον μακροχρόνιο γλυκαιμικό έλεγχο του ασθενούς κι αφετέρου την εξάλειψη των παραγόντων που αυξάνουν τον κίνδυνο

εμφάνισης των χρόνιων επιπλοκών του διαβήτη, προτείνοντας τη διακοπή του καπνίσματος, τον έλεγχο της αρτηριακής πίεσης και των επιπέδων χοληστερόλης, την αύξηση της σωματικής άσκησης και την υιοθέτηση από τον ασθενή ενός υγιεινού τρόπου ζωής. Σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 1, η χορήγηση ινσουλίνης είναι απαραίτητη για την εξασφάλιση των επιθυμητών επιπέδων γλυκόζης. Αντίθετα, σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 2, ο γλυκαιμικός έλεγχος είναι δυνατόν να επιτευχθεί αρχικά με έλεγχο του σωματικού βάρους και δίαιτα ή με χορήγηση αντιδιαβητικών φαρμάκων από το στόμα. Ινσουλίνη θα χρειαστούν οι ασθενείς αυτοί σε περίπτωση αποτυχίας του γλυκαιμικού ελέγχου με τα παραπάνω μέτρα. Ο συνηθέστερος τρόπος χορήγησης της ινσουλίνης είναι η υποδόρια έγχυση. Ο τύπος ινσουλίνης, η δόση και η συχνότητα χορήγησης εξαρτώνται αποκλειστικά από τις ανάγκες του εκάστοτε ασθενούς. Για το λόγο αυτό, το σχήμα της ινσουλινοθεραπείας είναι απόλυτα εξατομικευμένο. [2]

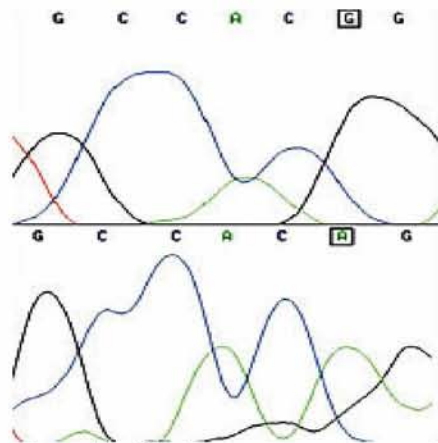


Εικόνα 2:Χάρτης της συχνότητας των θανάτων παγκοσμίως από διαβήτη[3]

1.1.2) Σημερινή πραγματικότητα:

Όπως είναι φανερό από την εικόνα 2, ο διαβήτης είναι ένας σημαντικός παράγοντας θνησιμότητας σε παγκόσμια κλίμακα. Από έρευνες που πραγματοποιήθηκαν προέκυψαν τα παρακάτω ευρήματα:

1. Ο διαβήτης προκαλεί το 5% όλων των θανάτων παγκοσμίως κάθε χρόνο.
2. Σε χώρες με χαμηλό ή μεσαίο εισόδημα το ποσοστό των ατόμων που πάσχουν από διαβήτη αγγίζει το 80%.
3. Οι περισσότεροι από αυτούς είναι άνθρωποι μεσαίας ηλικίας (45-64).
4. Οι θάνατοι από διαβήτη είναι πιθανόν να αυξηθούν περισσότερο από 50% στα επόμενα 10 έτη, χωρίς άμεση επαγρύπνηση.[3]



Εικόνα 3: Σημειακή μετάλλαξη. Αντικατάσταση της γουανίνης από αδενίνη [4].

1.1.3) Πολυμορφισμοί ενός νουκλεοτιδίου (SNPs, single nucleotide polymorphism):

Όταν η εξέταση πολλών ατόμων ενός πληθυσμού δείχνει ότι ένα αλληλόμορφο εμφανίζει ποικιλομορφία λόγω παραλλαγής σε μία μόνο θέση (ένα νουκλεοτίδιο) τότε μιλάμε για πολυμορφισμό ενός νουκλεοτιδίου (βλέπε παράδειγμα, εικόνα 3). Οι πολυμορφισμοί προκύπτουν από σημειακές μεταλλάξεις (συνηθέστερο) ή σπανιότερα λόγω απώλειας ή προσθήκης τμήματος γενετικού υλικού. Ωστόσο, δεν διατηρούνται πάντα στον πληθυσμό. Πολλές φορές ύστερα από κάποιο χρονικό διάστημα χάνονται, ενώ σε άλλες περιπτώσεις διατηρούνται και εξαπλώνονται σε ευρύτερα στρώματα του πληθυσμού. Οι γενετιστές για δεκαετίες προσπαθούσαν να ανιχνεύσουν τις γενετικές διαφορές μεταξύ των ατόμων. Για τον εντοπισμό τους χρησιμοποιήθηκαν οι φαινότυποι, η ακολουθία των πρωτεϊνών, οι επαναληπτικές ακολουθίες κ.α. Με τις σύγχρονες τεχνολογίες είναι πλέον εφικτή η ανίχνευση των διαφορών στην ακολουθία του DNA. Τα SNPs αναφέρονται, κυρίως στις διαφορές αυτές του DNA.

Τα SNPs:

1. Μπορεί να υπάρχουν σε περιοχές του γονιδιώματος που δεν κωδικοποιούνται τα εσώνια (δεν εκφράζονται), οπότε δεν γίνεται αντιληπτή η ύπαρξή τους.
2. Μπορεί να υπάρχει στη περιοχή ενός εξονίου (που εκφράζεται), με αποτέλεσμα η σημειακή αυτή αλλαγή μπορεί να εκφράζεται σαν ένα διαφορετικό αμινοξύ στη παραγόμενη πρωτεΐνη [5].

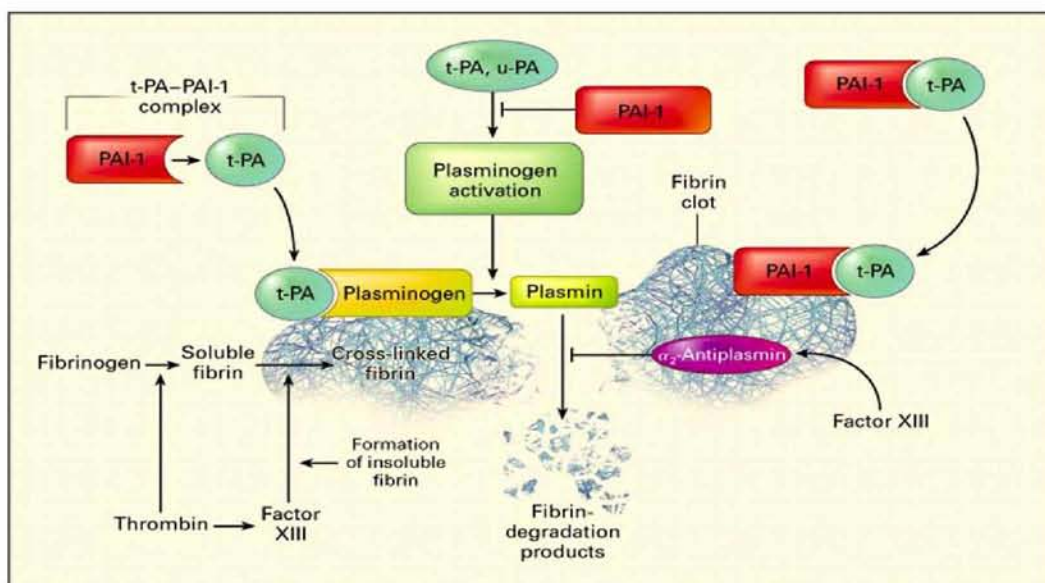
Οι συνήθεις ασθένειες όπως είναι ο καρκίνος, τα καρδιαγγειακά νοσήματα, ο διαβήτης και η υπέρταση οφείλονται σε πολλά γονίδια όπως, επίσης και σε περιβαλλοντικούς παράγοντες. Το μυστικό για την έρευνα των γονιδίων που προκαλούν ασθένειες είναι να γίνει κατανοητή η διαδικασία κατά την οποία παράγονται οι ασθένειες αυτές με την ελπίδα να βρεθεί και ο τρόπος αντιμετώπισής τους. Επειδή οι πληθυσμοί μοιράζονται πολλούς γενετικούς πολυμορφισμούς, οι συνήθεις ασθένειες είναι αναμενόμενο να προκαλούνται από πολυμορφισμούς [5]. Η ανάλυση των πολυμορφικών αλληλομόρφων σε επίπεδο πληθυσμών χρησιμεύει για:

1. Τυποποίηση των ιστών π.χ. για την εύρεση του συμβατότερου δότη σε περιπτώσεις μεταμόσχευσης ιστών και οργάνων
2. Για την εύρεση γονιδίων που προκαλούν ασθένειες

3. Σε πληθυσμιακές μελέτες, π.χ. για τη διαπίστωση γενετικής απόκλισης σε συγκεκριμένους πληθυσμούς
4. Σε επίπεδο πληθυσμών για τη διαπίστωση ομοιοτήτων και διαφορών μεταξύ ομάδων ή ειδών
5. Για την παρακολούθηση της μετανάστευσης πληθυσμών-ατόμων από μια γεωγραφική περιοχή σε άλλη [5].

1.2) Ινωδόλυση (fibrinolysis)

Η ινωδόλυση είναι μία λειτουργία του σώματος που βοηθά στη ρύθμιση της πηκτικότητας του αίματος (βλέπε εικόνα 4). Όταν αρχίζει να διαμορφώνεται ένας θρόμβος πραγματοποιούνται μία σειρά από βήματα για να αποτραπεί η ολοκλήρωση του. Αυτή η βοηθητική λειτουργία αποτρέπει από καρδιαγγειακά γεγονότα όπως το έμφραγμα του μυοκαρδίου. Η θρόμβωση, προκαλείται από μείωση στην ινωδολυτική δραστηριότητα των στοιχείων του αίματος και αυτό καλείται «ινωδολυτική δυσλειτουργία». Το ανθρώπινο αίμα ισορροπεί μεταξύ της πήξης και της ινωδόλυσης. Η δυσλειτουργία της ινωδόλυσης αυξάνει το σχηματισμό θρομβώσεων, η οποία μπορεί να αυξήσει τη εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων σε άτομα με καρδιομεταβολικό σύνδρομο [6].



Εικόνα 4: Το παραπάνω διάγραμμα παρουσιάζει την αλληλεπίδραση μεταξύ της πήξης (coagulation) και της ινωδόλυσης (fibrinolysis) του αίματος.

Η ινωδόλυση εκφράζεται με τα αυξημένα επίπεδα πλάσματος των (εικόνα 4) :

Plasminogen-activator inhibitor type 1 (PAI-1): μία πρωτεΐνη που ρυθμίζει την ισορροπία μεταξύ θρόμβωσης και ινωδόλυσης.

Factor VII: ένας απαραίτητος παράγοντας για την ομαλή πήξη του αίματος.

Fibrinogen: μία φυσιολογική πρωτεΐνη του αίματος.

Υψηλές συγκεντρώσεις του ενεργοποιητή του ιστικού πλασμινογόνου (tissue plasminogen activator, t-PA) και του d-dimer (μέτρα της ινωδόλυσης) αυξάνουν το κίνδυνο για έμφραγμα του μυοκαρδίου (εικόνα 4).[6]

Υπάρχουν πολλοί περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν τις συγκεντρώσεις ινωδογόνου πλάσματος. Έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνονται βαθμιαία με την ηλικία και είναι υψηλότερες στους καπνιστές. Τα επίπεδα ινωδογόνου είναι επίσης πιο υψηλά στα παχύσαρκα άτομα, σε εκείνους με αυξανόμενα επίπεδα ινσουλίνης, στους διαβητικούς ασθενείς, στις εγκύους, κατά τη διάρκεια της εμμηνοπάυσης και στις γυναίκες που παίρνουν αντισυλληπτικά χάπια. Επιπλέον, αυξανόμενα επίπεδα ινωδογόνου πλάσματος παρατηρούνται σε άτομα που προέρχονται από χαμηλές κοινωνικοοικονομικές τάξεις, και σε άτομα που είχαν χαμηλό βάρος γέννησης. Η χώρα προέλευσης φαίνεται επίσης να επηρεάζει τη σχέση μεταξύ των επιπέδων ινωδογόνου και του κινδύνου για καρδιαγγειακή πάθηση.[7]

1.2.1) PAI-1 (Plasminogen Activator Inhibitor 1):

Όπως ήδη έγινε γνωστό, το βασικό αντικείμενο της συγκεκριμένης εργασίας είναι το γονίδιο PAI-1 και συγκεκριμένα ο πολυμορφισμός 4G/5G στον υποκινητή του γονιδίου. Το PAI-1 είναι ένα σημαντικό συστατικό του συστήματος πήξης του αίματος και ο κύριος αναστολέας του ενεργοποιητή του ιστικού πλασμινογόνου (tPA) και της ουροκινάσης [8], των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου και επομένως της ινωδόλυσης, δηλαδή της φυσιολογικής διαδικασίας μέσω της οποίας διαλύονται οι θρόμβοι [9]. Είναι μία μονόκλωνη γλυκοπρωτεΐνη με μοριακό βάρος 47.000 DA και αποτελείται από 379 αμινοξέα. Η έλλειψη καταλοίπων κυστεΐνης θεωρείται αρμόδια για τη βιολογική αστάθεια του ενεργού PAI-1 το οποίο γρήγορα μετασχηματίζεται σε ανενεργό. Οι πολυμορφισμοί του PAI-1 γονιδίου, βρίσκονται στο χρωμόσωμα 7q22 και είναι αρκετοί [10] .

Η μείωση της ινωδόλυσης σε συνδυασμό με τα υψηλά επίπεδα πλάσματος PAI-1 έχουν αποτέλεσμα την αντικατάσταση της υγρής φιβρίνης από θρόμβο[6]. Η μειωμένη ινωδολυτική δραστηριότητα, που προκαλείται κυρίως από τα αυξανόμενα επίπεδα του PAI-1 πλάσματος, έχει ανευρεθεί σε πολλές μελέτες για ασθένειες των στεφανιαίων αρτηριών (CAD), του εμφράγματος του μυοκαρδίου (MI) και εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση (deep vein thrombosis) [11] .

1.2.2) Πολυμορφισμός 4G/5G στο γονίδιο PAI-1:

Ο πολυμορφισμός 4G/5G στον υποκινητή του γονιδίου PAI-1 είναι μία παραλλαγή ακολουθίας DNA, η οποία έχει σημασία στη ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου PAI-1. Ο πολυμορφισμός 4G/5G βρίσκεται στο χρωμόσωμα 7 και στη θέση -675, δηλαδή 675 ζευγάρια βάσεις πριν από τη θέση έναρξης της μεταγραφής. Γίνεται μια ενιαία εισαγωγή / διαγραφή γουανίνης, με συνέπεια δύο αλληλόμορφα γονίδια να περιέχουν είτε 4 είτε 5 γουανίνες σε μια σειρά (4G/5G) (εικόνα 5)[12] .

-765 PAI-1pr1
caccacccccaccagcacacctccaacctcagccagacaa
gtggtgggggtgggtcgtgtggaggttggagtcggtctgtt
 -725
ggttgttgacacaagagagccctcagggggcacagagagag
ccaacaactgtgttctctcgggagtccttcgtgtctctctc
 -685
tctggacacgtggggagtcagccgtgtatcatcggaggcg
agacctgtgcacccctcagtcgggcacatagtagcctccgc
 -645
gccggggcacatggcaggggatgagggaaagaccaagagtcc
cggcccgtgtaccgtccctactccctttctgggttctcagg
 -605 PAI-1pr2
tctgttggggcccaagtcctagacagacaaaacctagacaa-3'
agacaaccggggttcaggatctgtctgttttggatctgtt-5'

Εικόνα 5:Ακολουθία DNA του γονιδίου PAI-1. Οι αριθμοί στην ακολουθία DNA δείχνουν τη θέση των νουκλεϊνικών οξέων από την αρχή της μεταγραφής. Το βέλος δείχνει μια περιοχή εισαγωγής μιας γουανίνης στο 675 σημείο ζέσεως πριν από την αρχή της μεταγραφής που είναι και το σημείο του 4G 5G πολυμορφισμού [13].

Το αλληλόμορφο 4G έχει ελαφρώς μεγαλύτερη μεταγραφική ενεργότητα σε σχέση με το αλληλόμορφο 5G. Το 4G αλληλόμορφο γονίδιο συνδέεται με την ενισχυμένη έκφραση γονιδίων δεδομένου ότι δεσμεύει μια πρωτεΐνη ενεργοποίησης, ενώ το 5G αλληλόμορφο γονίδιο περιέχει μια πρόσθετη περιοχή ενεργοποίησης απόδεδευστική από τέτοιου είδους πρωτεΐνες.[14]

1.3)Μεθοδολογία:

1.3.1) Μετά-ανάλυση (meta-analysis):

Ο έλεγχος των σχέσεων ανιχνεύτηκε με τη διαδικασία της μετά-ανάλυσης η οποία υλοποιήθηκε από τις εντολές που παρείχε το στατιστικό πακέτο του STATA10. Η μετά-ανάλυση είναι ένας στατιστικός συνδυασμός πληροφοριών ανεξαρτήτων μελετών που επιτρέπουν την εκτίμηση μιας ακριβούς γενικής επίδρασης καθώς επίσης και την εξερεύνηση της ετερογένειας μεταξύ αυτών των μελετών. Η πρώτη ποσοτική αξιολόγηση των μελετών δημοσιεύθηκε στα μέσα της δεκαετίας του '50, αν και ο όρος «μετά-ανάλυση» εισήχθη το 1976 στον τομέα της ψυχολογίας και της εκπαιδευτικής έρευνας. Αργότερα, και παρά την κριτική, η μετά-ανάλυση καθιερώθηκε ως ερευνητικός κλάδος με πολλές εφαρμογές στις τυχαίες κλινικές δοκιμές (RCT). Σήμερα, εκτελείται συνήθως στους διάφορους τομείς της ιατρικής έρευνας. Επιπλέον, η προσέγγιση της μετά-ανάλυσης υιοθετήθηκε ευρέως στο νέο και γρήγορα εξελισσόμενο τομέα της γενετικής επιδημιολογίας, ο οποίος εστιάζεται στη διερεύνηση της συσχέτισης των γονιδίων με την εμφάνιση ασθενειών.[13]

Για την εκπόνηση της συγκεκριμένης πτυχιακής εργασίας συλλέξαμε όλα τα δεδομένα από τις μελέτες που εξέταζαν ασθενείς και μάρτυρες (Case-Controls studies) για το διαβήτη. Για τα διακριτά δεδομένα χρησιμοποιήσαμε σαν μέγεθος επίδρασης [13] το OR (Odds Ratio). Στα συνεχή δεδομένα σαν μέγεθος επίδρασης

χρησιμοποιήσαμε τη μέση τιμή και τη διακύμανση. Για να είναι αξιόπιστα τα αποτελέσματα μας πρέπει να πάρουμε όσο το δυνατό περισσότερες μελέτες.

1.3.2) Η «δύναμη» της μετά-ανάλυσης

Η δύναμή της εξαρτάται από τον αριθμό των μελετών και των δειγμάτων που συμπεριλαμβάνουμε σε αυτή και από τον τρόπο που συνδυάζονται τα στοιχεία για να προκύψει το τελικό αποτέλεσμα. Πιο συγκεκριμένα, για τα διακριτά δεδομένα για να μπορέσουμε να αποδεχτούμε το αποτέλεσμα, ο αριθμός των ασθενών και των μαρτύρων που εξετάζονται θα πρέπει να είναι πολύ μεγάλος ενώ για τα συνεχή δεδομένα, δύο είναι οι τρόποι (βλέπε Παράγραφο 2.2) που χρησιμοποιούνται για τον συνδυασμό των μεμονωμένων εκτιμήσεων που προέρχονται από τις αρχικές μελέτες:

το μοντέλο «καθορισμένων επιδράσεων» (fixed effect model)

το μοντέλο «τυχαίων επιδράσεων» (random effect model)

Στη παρούσα μελέτη το μοντέλο το οποίο χρησιμοποιήθηκε κατά την διαδικασία της μετά-ανάλυσης ήταν αυτό των τυχαίων επιδράσεων, καθώς έδινε πιο αξιόπιστη εικόνα των αποτελεσμάτων και αυτό γιατί το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων υποθέτει ότι τα δείγματα σε μία μετά-ανάλυση μπορεί να προέλθουν από μία διανομή πληθυσμών.

1.3.3) Η έννοια της αθροιστικής μετά-ανάλυσης (cumulative meta-analysis)

Η αθροιστική μετά-ανάλυση επιτρέπει την αξιολόγηση της συμβολής μιας νέας μελέτης στις ήδη υπάρχουσες έρευνες. Πιο συγκεκριμένα, αυξάνει βαθμιαία τα στοιχεία προσθέτοντας τις μελέτες στο χρόνο με μια διευκρινισμένη διαταγή (π.χ., σύμφωνα με την ημερομηνία της δημοσίευσης, τον αριθμό συμμετεχόντων) και παρέχει την ενημερωμένη αθροιστική εκτίμηση μαζί με το διάστημα εμπιστοσύνης του (CI) όταν ένα νέο κομμάτι των στοιχείων προκύπτει.[15]

1.3.4) Γενικά για τη διαδικασία της μετά-ανάλυσης

Η μετά-ανάλυση έχει σαν βασική προϋπόθεση της, την αναζήτηση στη βιβλιογραφία όλων των διαθέσιμων και δημοσιευμένων μελετών. Ο αριθμός τέτοιων μελετών, πλέον, είναι τεράστιος και αυξάνεται με ταχύτατους ρυθμούς. Παρόλα αυτά, κατά την αναζήτηση υπάρχουν κάποιοι παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπόψη. Αν τους παραβλέψουμε, πιθανότατα, να οδηγηθούμε σε λανθασμένο αποτέλεσμα (π.χ. σε υπερεκτίμηση των αποτελεσμάτων), και αυτά είναι (βλέπε Παράγραφο 2.6) η **γκρίζα βιβλιογραφία**, η **ξενόγλωσση βιβλιογραφία** και το **φαινόμενο του Πρωτέα** καλούμενα όλα αυτά μαζί ως προβλήματα στη βιβλιογραφία [16].

Πέρα, από τα προβλήματα της βιβλιογραφίας υπάρχουν δύο βασικά σημεία στη μετά-ανάλυση που πρέπει να ληφθούν υπόψη και είναι :

ο έλεγχος της ετερογένειας μεταξύ των μελετών και

ο έλεγχος της ισορροπίας Hardy-Weinberg .

Η ετερογένεια προκύπτει από το γεγονός ότι εξετάζουμε διαφορετικούς πληθυσμούς και ο νόμος του Hardy-Weinberg υποστηρίζει ότι οι γονότυποι κατανομούνται ανάλογα με τις συχνότητες των ατομικών αλληλομόρφων στον πληθυσμό και παραμένουν σταθεροί από γενιά σε γενιά. Ένας πληθυσμός που διέπεται από τα βασικά χαρακτηριστικά του νόμου Hardy-Weinberg θεωρείται ότι βρίσκεται σε ισορροπία Hardy-Weinberg. Η ανομοιογένεια και η ισορροπία

επηρεάζουν τα τελικά αποτελέσματα της μετά-ανάλυσης και επομένως μπορούν να οδηγήσουν σε ύπαρξη συσχέτισης ενώ στη πραγματικότητα δεν υφίσταται (βλέπε Παράγραφο 2.4 & Παράγραφο 2.5) [17].

Συμπερασματικά, για τη σωστή και σαφή εκτέλεση της μετά-ανάλυσης και την αποδοχή των συμπερασμάτων της, πρέπει να λαμβάνονται υπόψη όλοι οι παράγοντες που επιδρούν σε αυτή.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1) Αναζήτηση στη βιβλιογραφία

Η αναζήτηση πραγματοποιήθηκε στη βάση δεδομένων της Pubmed του NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), για άρθρα σχετικά με τον πολυμορφισμό 4G/5G για το γονίδιο PAI-1 και την ασθένεια του σακχαρώδη διαβήτη. Για τον εντοπισμό αυτών των άρθρων χρησιμοποιήθηκαν λέξεις-κλειδιά (τα λεγόμενα «queries») που ήταν τα εξής:

(pai OR "Plasminogen activator inhibitor") AND (4G OR polymorphism OR variant or allele or mutant or mutation) AND (diabetes OR diabetic OR T2DM OR NIDDM OR insulin OR hypertension OR "blood pressure" OR obesity OR "metabolic syndrome" OR dyslipidemia)
(pai OR "Plasminogen activator inhibitor") AND (4G OR polymorphism OR variant or allele or mutant or mutation) AND ("plasma concentration" OR "plasma levels" OR "antigen" OR "mRNA expression" OR "mRNA levels" OR "mRNA") NOT (diabetes OR diabetic OR T2DM OR NIDDM OR insulin OR hypertension OR "blood pressure" OR obesity OR "metabolic syndrome" OR dyslipidemia)

Η εύρεση των άρθρων πραγματοποιήθηκε μέσω του εξυπηρετητή (proxy server) του πανεπιστημίου. Για τα άρθρα που είχαμε πρόσβαση παραγγέλθηκαν από την βιβλιοθήκη της σχολής αλλά και από τους ίδιους τους καθηγητές που ήταν υπεύθυνοι για την εργασία αυτή.

Ακολούθως συγκεντρώθηκαν και καθορίστηκαν οι μελέτες που μας ήταν χρήσιμες. Δηλαδή, ελεγχθήκαν όλες οι μελέτες και από αυτές εντοπιστήκαν εκείνες που χρειαζόμασταν ενώ οι υπόλοιπες απορρίφθηκαν (η καθεμία για τους δικούς της λόγους).

Από τις μελέτες που τελικά συγκεντρώσαμε, καταχωρήσαμε τα δεδομένα τους σε αρχεία excel. Τα στοιχεία που καταχωρήθηκαν ήταν: ο κωδικός αριθμός της βάσης δεδομένων Pubmed (**PMID**), ο συγγραφέας του κάθε άρθρου (**AUTHOR**), το έτος (**YEAR**), η χώρα (**COUNTRY**), η φυλή (**FYLI**), η πόλη (**TOWN**) καθώς επίσης, και ο αριθμός (με την μέση τιμή και την τυπική απόκλιση) των γονοτύπων, το ποσοστό των ανδρών, το ποσοστό ατόμων που ήταν είτε υγιείς είτε ασθενείς από υπέρταση, διαβήτη, παχυσαρκία και καρδιαγγειακά νοσήματα όπως έμφραγμα του μυοκαρδίου, αρτηριοσκλήρωση κ.τ.λ. και τέλος ο συνολικός αριθμός των ατόμων που ήταν ασθενείς (**number_of_cases**) και υγιείς (**number_of_controls**). Αυτή η καταχώρηση αφορά μόνο τα συνεχή χαρακτηριστικά. Στη παρούσα πτυχιακή εργασία, τα συνεχή χαρακτηριστικά τα οποία ελεγχθήκαν ήταν η **γλυκόζη (glucose)** και η **ινσουλίνη (insulin)**. Χρησιμοποιήθηκαν γιατί έχουν άμεση σχέση με την εμφάνιση της υπό εξέταση ασθένειας. Για την περίπτωση των διακριτών χαρακτηριστικών δημιουργήθηκε ένα ακόμη αρχείο excel στο οποίο καταχωρήθηκαν **PMID, AUTHOR, YEAR, COUNTRY, FYLI, TOWN**, ο αριθμός των γονοτύπων των διαβητικών και των υγιών (**controls**). Επίσης, καταχωρήθηκαν ο συνολικός αριθμός των ατόμων που ήταν διαβητικοί και υγιείς (**controls**) καθώς και το ποσοστό των ανδρών (**MEN cases & MEN controls**) που ήταν ασθενείς (διαβητικοί) και υγιείς (μη-διαβητικοί). Τα αρχεία αυτά δημιουργήθηκαν με σκοπό την χρήση της μετά-ανάλυσης που παρέχει το στατιστικό πακέτο του STATA10.

2.2)Εισαγωγή στην «αναλογία πιθανοτήτων (odds ratio) »

Τα τελευταία χρόνια οι αναλογίες πιθανοτήτων έχουν γίνει ευρέως χρήσιμες σε ιατρικά άρθρα. Οι λόγοι για τους οποίους είναι τόσο διαδεδομένη είναι τρεις και είναι οι εξής: Αρχικά, παρέχουν μια εκτίμηση (με το διάστημα εμπιστοσύνης) για τη σχέση δύο μεταβλητών (μεταξύ της απόφασης του «ναι ή όχι») . Αφετέρου, επιτρέπουν σε μας, να εξετάσουμε τα αποτελέσματα άλλων μεταβλητών σε εκείνη την σχέση, χρησιμοποιώντας τη λογιστική παλινδρόμηση. Τρίτον, έχουν πολύ κατάλληλη ερμηνεία στις μελέτες ασθενών-μαρτύρων (case-control studies) [18].

Στην δική μας εργασία, η οποία είναι μελέτη ασθενών-μαρτύρων (case-control study) χρησιμοποιήθηκε ως μέγεθος επίδρασης η αναλογία πιθανοτήτων (odds ratio, OR) για τα διακριτά δεδομένα. Το OR ορίζεται ως η πιθανότητα να συμβεί ένα γεγονός προς την πιθανότητα να μην συμβεί. Είναι ένας εκτιμητής που εξετάζει εάν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ δύο μεταβλητών (βλέπε Πίνακα 2.1). [18]

Πίνακας 2.1: Αριθμός ετερόζυγων και ομόζυγων ατόμων των ασθενών και των μαρτύρων.

	ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ		
	AA	AB	BB
Ασθενείς	α	β	γ
Μάρτυρες	δ	ε	ζ

Επειδή με το πίνακα (3x3) αυτό δεν είναι εύκολο να υπολογίσουμε το OR συμπτύσσουμε τα δεδομένα του βασιζόμενοι σε ένα μοντέλο κληρονομικότητας:

AA έναντι AB+BB

BB έναντι AA+AB

AA έναντι BB

Πίνακας 2.2:Ο συμπυκνμένος πίνακας που προέκυψε από την ένωση των γονοτύπων.

	AA	AB+BB
Ασθενείς	α	$\beta+\gamma$
Μάρτυρες	δ	$\varepsilon+\zeta$

Στην προκειμένη περίπτωση που το γονίδιο είναι AA έναντι AB+BB , το OR είναι:

$$OR = \alpha * \left(\frac{\varepsilon + \zeta}{\delta * (\beta + \gamma)} \right)$$

και ελέγχει τη συσχέτιση του A αλληλομόρφου με την ασθένεια.

Στη περίπτωση που το γονίδιο είναι BB έναντι AA+AB ο πίνακας έχει την ίδια μορφή αλλά με μία μικρή παραλλαγή.

Πίνακας 2.3 : Ο συμπυκνμένος πίνακας που προέκυψε από την ένωση των γονοτύπων

	BB	AB+AA
Ασθενείς	γ	$\alpha+\beta$
Μάρτυρες	ζ	$\delta+\epsilon$

Εδώ το OR δίνεται:

$$OR = \gamma * \left(\frac{\epsilon + \delta}{\zeta * (\beta + \alpha)} \right)$$

και ερευνά τη συσχέτιση του 5G αλληλομόρφου με την ασθένεια. Στη μετά-ανάλυση που πραγματοποιήθηκε, στη παρούσα εργασία, χρησιμοποιήθηκε το 95% διάστημα εμπιστοσύνης (CI, Coefficient Interval), το οποίο υπολογίζεται από τον τύπο:

$$CI_L = \log or - 1.96 * SE_{(\log or)}$$

$$CI_U = \log or + 1.96 * SE_{(\log or)}$$

Όπου:

$SE_{(\log or)}$: Standard Error,

CI_L : κατώτερο όριο,

CI_U : ανώτερο όριο

Το OR ακολουθεί «λοξή» κατανομή. Για το λόγο αυτό υπολογίζουμε τον λογάριθμο του OR ($\log OR$), ο οποίος μπορεί να πάρει οποιαδήποτε τιμή και έχει σχεδόν κανονική κατανομή. Το $SE_{(\log or)}$ υπολογίζεται με τον τύπο:

$$SE_{(\log or)} = \sqrt{\frac{1}{\alpha} + \frac{1}{\beta} + \frac{1}{\gamma} + \frac{1}{\delta}}$$

Όπου: **sqrt** η τετραγωνική ρίζα [16].

Στα διακριτά δεδομένα υπολογίσαμε αρχικά το $\log(OR)$ με τη βοήθεια του Stata10 με τον ακόλουθο τρόπο:

```
gen logor_dom=
    log(( (nab1+nbb1) / naa1) / ( (nab0+nbb0) / naa0) )
gen logor_res=
    log(( (nbb1) / (nab1+naa1)) / ( (nbb0) / (nab0+naa0) ) )
gen logor_allele=
    log(( (2*nbb1+nab1) / (2*naa1+nab1) ) /
        ( (2*nbb0+nab0) / (2*naa0+nab0) ) )
```

Όπου: **logor_dom**: το επικρατές γονίδιο
logor_res: το υπολειπόμενο γονίδιο
logor_allele: το συνεπικρατές γονίδιο
0: υγιής πληθυσμός
1: ασθενής πληθυσμός

Έπειτα εκτελούνται οι εντολές :

```
replace logor_dom=  
log(((nab1+nbb1+0.5)/(naa1+0.5))/((nab0+nbb0+0.5)/(naa0+0  
.5))) if naa0==0 |nbb0+nab0==0|naa1==0 |nbb1+nab1==0
```

```
replace logor_res=  
log(((nbb1+0.5)/(naa1+nab1+0.5))/((nbb0+0.5)/(naa0+nab1+0  
.5))) if nab0+naa0==0 |nbb0==0|nab1+naa1==0 |nbb1==0
```

```
replace logor_allele=  
log(( (2*nbb1+nab1+0.5)/  
(nab1+2*naa1+0.5))/((2*nbb0+nab0+0.5)/(nab0+2*naa0+0.5)))  
if nab0+2*naa0==0 |2*nbb0+nab0==0|nab1+2*naa1==0  
|2*nbb1+nab1==0
```

```
gen a4=logor_dom
```

```
gen a2=logor_res
```

```
gen a3=logor_allele
```

οι οποίες κάνουν αντικαταστάσεις των τυχόν μηδενικών τιμών των αλληλομόρφων που μπορεί να προκύψουν με 0,5. Στη δική μας τη περίπτωση η εντολή είναι προαιρετική καθώς μηδενικές τιμές των αλληλομόρφων δεν υπήρξαν, επομένως δεν πραγματοποιηθήκαν αλλαγές. Επίσης, δημιουργήσαμε τρεις μεταβλητές στις οποίες θέσαμε τις τιμές των logor_dom, logor_res και logor_allele στις αντίστοιχες μεταβλητές a4, a2 και a3. Στη συνέχεια, όπως προαναφέραμε υπολογίζουμε τη διακύμανση και το τυπικό σφάλμα (standard error, SE) καθενός γονιδίου ξεχωριστά. Έτσι δίνονται οι εντολές:

```
gen var_dom=  
(1/naa0+1/(nab0+nbb0)+1/naa1+1/(nab1+nbb1))
```

```
gen var_res=  
(1/nbb0 +1/(nab0+naa0) +1/nbb1 +1/(nab1+naa1))
```

```
gen var_allele=  
(1/(2*nbb1+nab1)+1/(2*naa1+nab1)+1/(2*nbb0+nab0)+1/(2*naa  
0+nab0))
```

Θέτουμε τις μεταβλητές που δημιουργήθηκαν σε νέες μεταβλητές :

```
gen v44=var_dom
```

```
gen v22=var_res
```

```
gen v33=var_allele
```

```
gen se_dom=sqrt(var_dom)
```

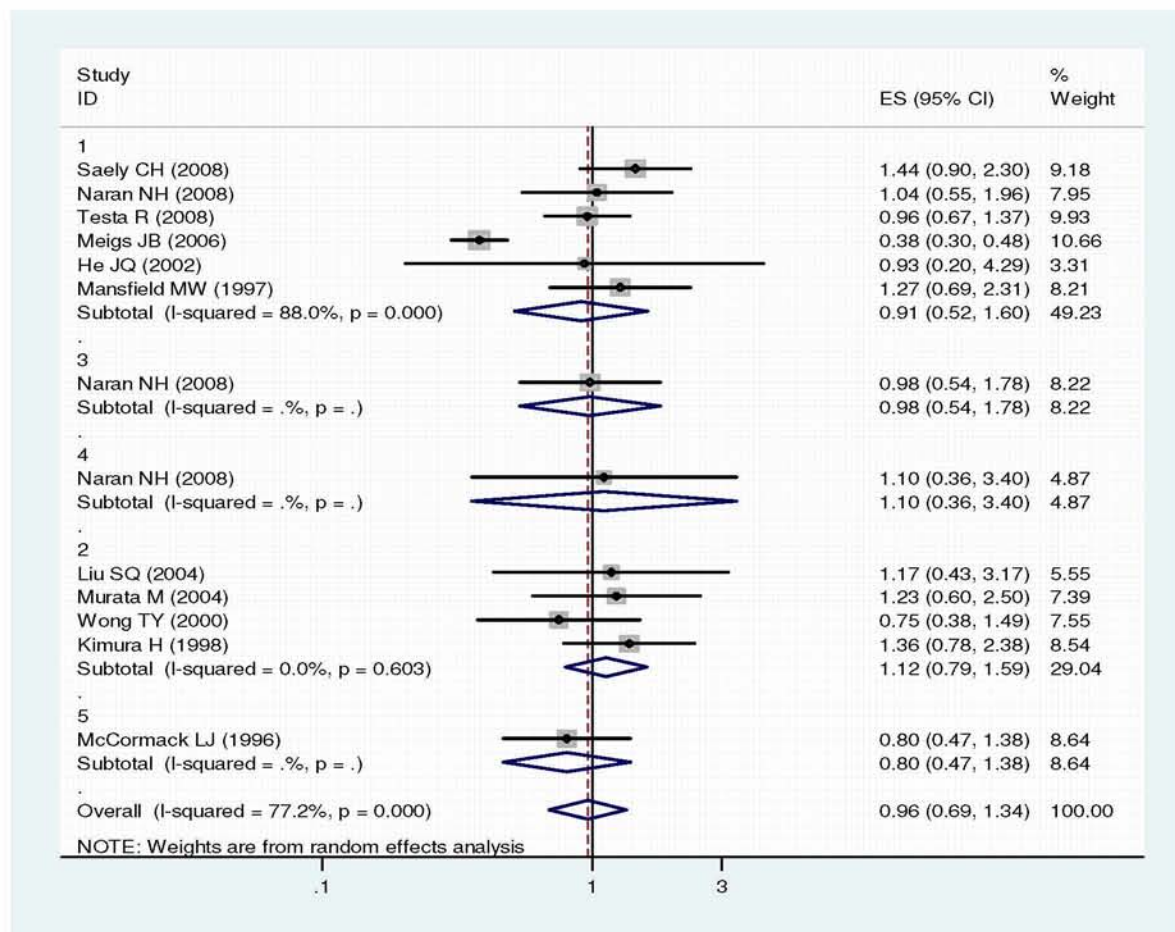
```
gen se_res=sqrt(var_res)
```

```
gen se_allele=sqrt(var_allele)
```


Μετά τον υπολογισμό του τυπικού σφάλματος (SE), σειρά έχει η διαδικασία της μετά-ανάλυσης για το επικρατές γονίδιο (για τη σύμπτυξη γονοτύπων 4G/4G vs 4G/5G&5G/5G), στη διερεύνηση της συσχέτισης του πολυμορφισμού του γονιδίου PAI-1 με την ασθένεια, η οποία πραγματοποιήθηκε με την εντολή:

```
metan logor_dom se_dom, eform random by(fylh)
label(namevar=author, yearvar=year) xlab(0.1, 1, 3)
```

Με το αποτέλεσμα της εντολής αυτής μπορούμε να αποφανθούμε αν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του 4G/4G γονοτύπου με την ασθένεια στη συγκεκριμένη περίπτωση (4G/4G vs 4G/5G&5G/5G). Πιο συγκεκριμένα, το αποτέλεσμα αυτής της εντολής είναι το “forest plot”, το οποίο είναι μία γραφική απεικόνιση των μελετών με τις αντίστοιχες τιμές των OR (με το 95% διάστημα εμπιστοσύνης). Το forest plot επιτρέπει στον αναγνώστη να δει όλες τις μελέτες με μια ματιά. Σε ένα άξονα υπολογίζεται το μέγεθος επίδρασης μαζί με τα διαστήματα εμπιστοσύνης. Κοιτώντας το συνολικό (overall) OR μπορούμε να συμπεράνουμε αν υπάρχει συσχέτιση του γονιδίου με την ασθένεια. Αν στο διάστημα εμπιστοσύνης περιλαμβάνεται η τιμή 1 τότε δεν υπάρχει καμία συσχέτιση.(εικόνα 6)



Εικόνα 6: forest plot της εντολής metan. Εδώ, στην αριστερή πλευρά παρουσιάζονται οι μελέτες με το συγγραφέα τους και την ημερομηνία χωρισμένες ανάλογα με τη φυλή στην οποία ανήκει η καθεμία ενώ στη δεξιά πλευρά παρουσιάζεται το αντίστοιχο OR και το 95% διάστημα εμπιστοσύνης της κάθε μελέτης. Στο κέντρο εμφανίζεται διαγραμματικά το OR (95% coefficient interval).

2.3) Σταθμισμένη μέση διαφορά για τα συνεχή δεδομένα

Στα συνεχή χαρακτηριστικά σαν μέγεθος επίδρασης χρησιμοποιήθηκε η σταθμισμένη μέση διαφορά δηλαδή η διαφορά των μέσων τιμών. Έτσι χρειάστηκε να καταχωρήσουμε τη μέση τιμή και την τυπική απόκλιση για κάθε γονότυπο ξεχωριστά (πίνακας 2.4).

Πίνακας 2.4: Τα δεδομένα που καταχωρήθηκαν για τα συνεχή δεδομένα.

	ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ		
	AA	AB	BB
Αριθμός ατόμων	n1	n2	n3
Μέση τιμή	X1	X2	X3
Τυπική απόκλιση	Sd1	Sd2	Sd3

Ωστόσο, λόγω της πολυπλοκότητας των υπολογισμών που προκύπτουν από το πίνακα 2.4, συμπύξαμε τους γονότυπους όπως φαίνεται στο πίνακα που ακολουθεί (πίνακας 2.5). Η ίδια διαδικασία πραγματοποιήθηκε και για τη σύμπτυξη AA+AB με BB.

Πίνακας 2.5: Οι τύποι που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη σύμπτυξη των γονοτύπων για τον υπολογισμό της μέσης τιμής και της τυπικής απόκλισης.

	ΓΟΝΟΤΥΠΟΙ	
	AA	AB+BB
Αριθμός ατόμων	n1	$n_2 + n_3$
Μέση τιμή	X1	$\frac{(n_2 * X_2 + n_3 * X_3)}{(n_2 + n_3)}$
Τυπική απόκλιση	Sd1	$\sqrt{\frac{(n_2 - 1) * sd_2^2 + (n_3 - 1) * sd_3^2}{(n_2 + n_3 - 2)}}$

Η διαφορά των μέσων τιμών αλλά και η διαφορά των τυπικών αποκλίσεων γενικά ορίζονται όπως πιο κάτω:

$$d_i = (\bar{X}_{1_i} - \bar{X}_{2_i}) \quad \text{και} \quad \text{var}(d_i) = \frac{sd_{1_i}^2}{n_{1_i}} + \frac{sd_{2_i}^2}{n_{2_i}}$$

όπου d_i είναι η διαφορά των μέσων τιμών, X_{1_i} και X_{2_i} είναι οι μέσες τιμές, n_{1_i} και n_{2_i} ο αριθμός των ατόμων για κάθε γονότυπο. Το $sd_{1_i}^2$ είναι η τυπική απόκλιση για τον πρώτο γονότυπο και αντίστοιχα το $sd_{2_i}^2$ είναι η τυπική απόκλιση για τον δεύτερο γονότυπο.[16]

2.4) Μοντέλα στατιστικής ανάλυσης:

Όπως ήδη έχουμε προαναφέρει για την ανάλυση και τον συνδυασμό των μεμονωμένων εκτιμήσεων που προέρχονται από τις αρχικές μελέτες των δεδομένων, στο στατιστικό πακέτο του STATA10, χρησιμοποιούνται δύο μοντέλα. Αυτά τα μοντέλα είναι:

- Μοντέλο σταθερών επιδράσεων (fixed effect model),
- Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (random effect model)

Το πρώτο μοντέλο (σταθερών επιδράσεων) υποθέτει ότι όλα τα δείγματα της μελέτης προέρχονται από έναν ενιαίο πληθυσμό με ένα κοινό μέγεθος επίδρασης. Σ' αυτό το μοντέλο ένας είναι ο παράγοντας που συμβάλλει στις διαφορές μεταξύ των παρατηρηθείσων εκτιμήσεων επίδρασης-μεγέθους στις μεμονωμένες μελέτες και αυτό είναι το σφάλμα δειγματοληψίας (sample error).

Το δεύτερο μοντέλο (τυχαίων επιδράσεων) υποθέτει ότι τα δείγματα μελέτης που περιλαμβάνονται σε μια μετά-ανάλυση μπορούν να προέλθουν από μια διανομή πληθυσμών. Σ' αυτό το μοντέλο οι παράγοντες που συμβάλλουν στις παρατηρηθείσες διαφορές μεταξύ των εκτιμήσεων επίδρασης-μεγέθους είναι:

- Η ετερογένεια μεταξύ μελέτης και
- το σφάλμα δειγματοληψίας

Η ετερογένεια οφείλεται, συνήθως, στους πληθυσμούς από τους οποίους προέρχονται τα δείγματα κάθε μελέτης και το σφάλμα δειγματοληψίας προκύπτει από επιλογή λανθασμένου δείγματος.

2.4.1) Μοντέλο σταθερών επιδράσεων (fixed effect model):

Ένα μοντέλο σταθερών επιδράσεων υποθέτει ότι όλα τα δείγματα (έστω Y_i) προέρχονται από έναν ενιαίο πληθυσμό που έχουν ένα κοινό μέγεθος επίδρασης θ . Ας θέσουμε το θ ως τη κεντρική παράμετρο ενδιαφέροντος και υποθέτουμε ότι υπάρχουν $i=1,2,3,\dots,k$ ανεξάρτητες μελέτες (βλέπε εικόνα 7).

$$E(Y_i) = \theta$$

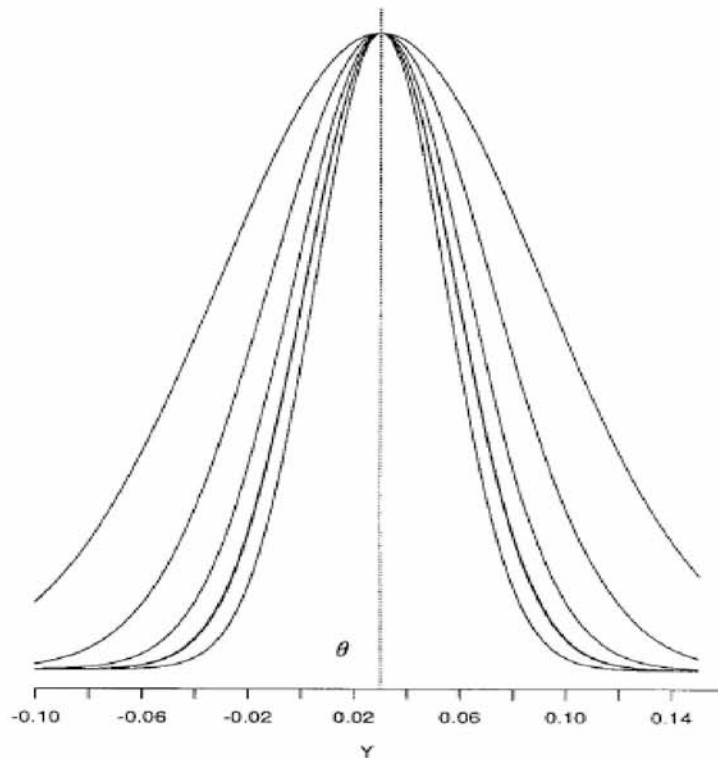
Και

$$s_i^2 = \text{var}(Y_i)$$

Όπου s_i^2 είναι η διακύμανση της κάθε i th μελέτης (βλέπε εικόνα 7).

Ο τύπος που εκφράζει αυτό το μοντέλο είναι [17]:

$$Y_i \sim N(\theta, s_i^2) \quad \text{για } i=1, 2, 3, \dots, k$$



Εικόνα 7: Η κατανομή 5 υποθετικών επιδράσεων χρησιμοποιώντας το μοντέλο σταθερών επιδράσεων. Κάθε δείγμα Y_i έχει ένα κοινό μέγεθος επίδρασης θ . Η διαφορά ανάμεσα στις 5 μελέτες είναι η διαφορετική διακύμανση κάθε μελέτης S_i^2 , δηλαδή πόσο καλά υπολογίζει κάθε μελέτη το θ .

2.4.2) Έλεγχος ετερογένειας

Για τη διεξαγωγή της μετά-ανάλυσης βασικό κομμάτι είναι ο έλεγχος της ετερογένειας μεταξύ των μεμονωμένων μελετών. Στη προκειμένη περίπτωση, όπου η μετά-ανάλυση γίνεται με το μοντέλο των τυχαίων επιδράσεων (random effect model), υπάρχει μεγάλη πιθανότητα εμφάνισης ετερογένειας στη μελέτη καθώς τα δείγματα μπορεί να προέρχονται από διαφορετικούς πληθυσμούς.

Το μοντέλο σταθερών επιδράσεων προϋποθέτει ότι τα δείγματα είναι ομογενή μεταξύ τους. Ο έλεγχος της ετερογένειας προσδιορίζεται με δύο τεστ:

- ❖ Q test του Cochran, το οποίο ενδείκνυται στις περιπτώσεις όπου έχουμε μεγάλο πλήθος δειγμάτων και δίνει πολύ καλά αποτελέσματα. Η στατιστικά σημαντική ετερογένεια είναι όταν η τιμή του p-value είναι μεγαλύτερη από 0,1 και
- ❖ I^2 test, το οποίο ενδείκνυται ακόμη και για πάρα πολύ μικρά δείγματα και δίνει και αυτό πολύ καλά αποτελέσματα [16].

Για τη πραγματοποίηση του ελέγχου της ετερογένειας θεωρούμε δύο υποθέσεις:

- ❖ H_0 : Τα δείγματα μας είναι ομοιογενή,
- ❖ H_1 : Τα δείγματα μας είναι ανομοιογενή

Χρησιμοποιώντας αυτές τις δύο υποθέσεις, θα μπορούσαμε να αποφασίσουμε αν υπάρχει ή όχι ετερογένεια. Με άλλα λόγια, ανάλογα με το ποια από τις δύο

υποθέσεις θα απορριφτεί θα έχουμε ετερογένεια ή δεν θα έχουμε. Ο έλεγχος της ετερογένειας γίνεται στο STATA10 με την εντολή της metan. Ανάλογα με ποιο μοντέλο χρησιμοποιούμε, η metan κάνει και τους ανάλογους υπολογισμούς. Στη δική μας τη περίπτωση, όπου χρησιμοποιήσαμε το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων, οι υπολογισμοί είναι οι εξής [16]:

$$\hat{\theta}(\tau)_{MLE} = \frac{\sum_i W_i(\tau) Y_i}{\sum_k W_i(\tau)} \quad \text{με} \quad W_i(\tau) = \frac{1}{s_i^2 + \tau^2}$$

Πίνακας 2.6:Μορφή των εξαγόμενων αποτελεσμάτων

Genotype	cases	controls	OR
4G/4G	n11	n10	OR1
4G/5G	n21	n20	OR2
5G/5G	n31	n30	1*

Για τα διακριτά χαρακτηριστικά: Τα δεδομένα που εξάγονται από κάθε μελέτη είναι ο αριθμός των ατόμων (n11,n21,n31,n10,n20 & n30) για κάθε γονότυπο (4G/4G, 4G/5G & 5G/5G) σε ομάδες ασθενών(1) και μαρτύρων(0). Το OR ορίζει την επίδραση του γονιδίου της κάθε μελέτης (πίνακας 2.4). Τα ORs χρησιμοποιούνται για την ετερογένεια μέσω του Q τεστ, όπως ορίζεται παρακάτω [16]:

$$Q = \sum_{i=1}^k w_i (\bar{\theta}_i - \bar{\theta})^2$$

$$\bar{\theta} = \ln \bar{OR} = \frac{\sum_{i=1}^k w_i \ln \bar{OR}_i}{\sum_{i=1}^k w_i}$$

$$\bar{\theta}_i = \ln \bar{OR}_i = \ln \left(\frac{n_{11i} n_{20i}}{n_{10i} n_{21i}} \right)$$

$$w_i = \frac{1}{\text{var}(\ln \bar{OR}_i)}$$

$$\text{var}(\ln \bar{OR}_i) = \frac{1}{n_{11i}} + \frac{1}{n_{10i}} + \frac{1}{n_{21i}} + \frac{1}{n_{20i}}$$

Όπου:

w_i : είναι συντελεστής βαρύτητας

Στα συνεχή δεδομένα το στατιστικό Q test του Cochran's καθορίζεται ως εξής [16]: Στα δεδομένα κάθε μελέτης υπολογίσθηκε η μέση τιμή (mean) και η τυπική

απόκλιση (standard deviation) της κάθε ομάδας γονοτύπων, δηλαδή: για 4G/4G, 4G/5G & 5G/5G. Αυτές οι τρεις διαφορές μεταξύ των τριών ομάδων των μέσων, χρησιμοποιούνται για την ετερογένεια κάνοντας χρήση του Q τεστ για το καθένα. Έτσι, ορισθήκαν τρεις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων: 4G/4G & 5G/5G (D1), ομάδων 4G/5G & 5G/5G (D2) και ομάδων 4G/4G & 4G/5G (D3). Αυτές οι διαφορές μπορούν να χρησιμοποιηθούν με δύο τρόπους σταθμισμένη και μη σταθμισμένη μέση διαφορά (SMD και USMD αντίστοιχα), για τον ορισμό του Q τεστ ως ακολούθως: Όπως προαναφέραμε το τεστ αυτό υπολογίζεται αυτόματα, μέσω της εντολής metan. Οι υπολογισμοί είναι οι εξής[16]:

$$Q = \sum_{i=1}^k w_i (d_i - D)^2$$

Όπου[16]:

$$\bar{D} = \left(\frac{\sum_{i=1}^k w_i d_i}{\sum_{i=1}^k w_i} \right)$$

$$w_i = \frac{1}{\text{var}(d_i)}$$

Για SMD:

$$d_i = \frac{(\bar{x}_{1i} - \bar{x}_{2i})}{sd_i}$$

$$sd_i = \sqrt{\frac{(n_{1i} - 1)sd_{1i}^2 + (n_{2i} - 1)sd_{2i}^2}{(n_{1i} + n_{2i} - 2)}}$$

$$\text{var}(d_i) = \frac{n_i}{n_{1i}n_{2i}} + \frac{d_i^2}{2(n_i - 2)} \text{ (Cohen's method)}$$

Και για USMD:

$$d_i = (\bar{x}_{1i} - \bar{x}_{2i})$$

$$\text{var}(d_i) = \frac{sd_{1i}^2}{n_{1i}} + \frac{sd_{2i}^2}{n_{2i}}$$

Όπου:

w_i : είναι ένας συντελεστής βαρύτητας.

d_i : είναι η standardized ή unstandardized διαφορά των μέσων

D: είναι η επίδραση

x_{1i} και x_{2i} είναι οι μέσες τιμές των γονοτύπων 4G και 5G

n_{1i} και n_{2i} : είναι ο αριθμός των ατόμων με γονότυπο 4G/4G και 5G/5G

$$n_i = n_{1i} + n_{2i}$$

sd_i : είναι η τυπική απόκλιση

$var(d_i)$:είναι η διακύμανση της διαφοράς

Στη δική μας τη περίπτωση οι τύποι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν της unstandardized μέσης διαφοράς (USMD) καθώς οι μονάδες μετρήσεις των μορίων ήταν ίδιες. Η κατανομή του Q είναι περίπου ίδια με την κατανομή του χ^2 και έχει k-1 βαθμούς ελευθερίας και για τα συνεχή και για τα διακριτά χαρακτηριστικά [19]

Εκτός, όμως από το παραπάνω τεστ ετερογένειας υπάρχει και το I^2 τεστ, το οποίο ελέγχει και υπολογίζει την ετερογένεια, αν και εφόσον υπάρχει. Πιο συγκεκριμένα υπολογίζεται από τον ακόλουθο τύπο [19]:

$$I^2 = \frac{Q - (k-1)}{Q} * 100\%$$

Οι τιμές των αποτελεσμάτων του I^2 κυμαίνονται από 0 μέχρι 100%. Οι τιμές αυτές αντιπροσωπεύουν το ποσοστό της παραλλαγής (variation) μεταξύ των μελετών που προκλήθηκε από ετερογένεια. Αναλυτικότερα:

- ❖ τιμές κάτω από 25% φανερώνουν μια μικρή ή αμελητέα ετερογένεια, ενώ
- ❖ τιμές που υπερβαίνουν το 50% υποδηλώνουν ότι η ετερογένεια επιδρά στο αποτέλεσμα της μετά-ανάλυσης [20].

Σε περίπτωση που υπάρχει ετερογένεια μεταξύ των δειγμάτων τότε δεν μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε το μοντέλο σταθερών επιδράσεων αλλά χρησιμοποιούμε το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων. Το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων, προϋποθέτει ότι τα δείγματα προέρχονται από διαφορετικούς πληθυσμούς, επομένως είναι αναμενόμενη η ύπαρξη της ετερογένειας.

2.4.3) Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (random effect model):

Το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων υποθέτει ότι τα δείγματα της μελέτης που περιλαμβάνονται σε μια μετά-ανάλυση μπορούν να προέλθουν από μια διανομή πληθυσμών. Κάθε μελέτη έχει ένα διαφορετικό μέγεθος επίδρασης θ_i και διακύμανση s_i^2 (βλέπε εικόνα 8).

Ο τύπος που δίνεται για το μοντέλο είναι (εικόνα 9):

$$Y_i | \theta_i, s_i^2 \sim N(\theta_i, s_i^2)$$

Κάθε δείγμα του υπερπληθυσμού έχει μέγεθος επίδρασης που κατανέμεται με μέση τιμή θ και διακύμανση τ^2 με τύπο:

$$\theta_i \sim N(\theta, \tau^2)$$

όπου θ και τ^2 είναι υπερπαράμετροι (hyper parameters) που αντιπροσωπεύουν το κοινό μέγεθος επίδρασης και την διακύμανση, αντίστοιχα (βλέπε εικόνα 8). Η ανάλυση του υπερπληθυσμού δίνεται από τον τύπο:

$$\theta_i | y, \theta, \tau^2 \sim N(B_i \theta + (1 - B_i) Y_i, s_i^2 (1 - B_i))$$

με:

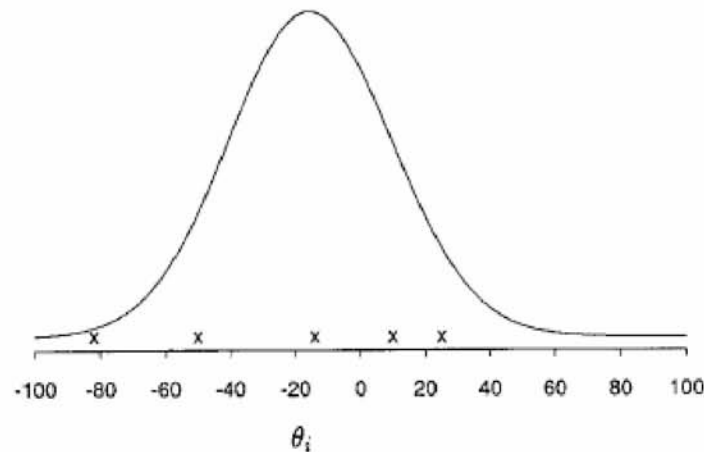
$$y = (Y_1, Y_2, \dots, Y_k) \text{ και } \tau^2 = \left(\frac{Q - (n-1)}{\sum_{i=2}^n w_i - \frac{\sum_{i=1}^n w_i^2}{\sum_{i=1}^n w_i}} \right)$$

και

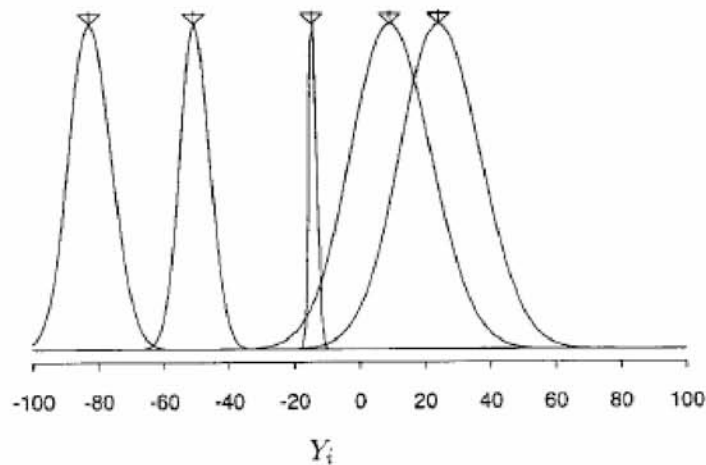
$$B_i = \frac{s_i^2}{(s_i^2 + \tau^2)}$$

Η παράμετρος τ^2 παίζει σημαντικό ρόλο και πρέπει πάντοτε να υπολογίζεται. Όταν το $\tau^2 = 0$ τότε τα δύο μοντέλα είναι ισοδύναμα. Η παράμετρος αυτή παίρνει τιμές μεγαλύτερες ή ίσες με το 0 [17]. Το τ^2 , το οποίο προτάθηκε από τους Dersimonian και Laird, είναι ένας μη επαναληπτικός εκτιμητής που υπολογίζει τη μεταβλητότητα μεταξύ των μελετών [18].

Αν υπάρχει μικρή ετερογένεια τότε τα αποτελέσματα των δύο μοντέλων δεν διαφέρουν. Αντίθετα όταν η ετερογένεια είναι μεγάλη τα μοντέλα τυχαίων επιδράσεων συνήθως δίνουν πιο συντηρητικά αποτελέσματα, δηλαδή μεγαλύτερα διαστήματα εμπιστοσύνης



Εικόνα 8: Κατανομή 5 υποθετικών δειγμάτων κάνοντας χρήση μοντέλου τυχαίων επιδράσεων. Κάθε μέγεθος επίδρασης θ_i προέρχεται από τον υπερπληθυσμό με μέγεθος επίδρασης θ και διακύμανση τ^2 .



Εικόνα 9: Στο παράδειγμα κάθε ένα από τα μεγέθη επίδρασης δημιούργησαν τα 5 αποτελέσματα των μοντέλων.

2.5) Προβλήματα βιβλιογραφίας

Όπως ήδη έχουμε προαναφέρει, κατά τη διεξαγωγή της μετά-ανάλυσης λαμβάνονται υπόψη τα προβλήματα που υπάρχουν στη βιβλιογραφία, είδαμε πως μπορεί να οδηγηθούμε σε εσφαλμένα συμπεράσματα. Τα προβλήματα αυτά είναι:

- ξενόγλωσση βιβλιογραφία
- «γκρίζα» βιβλιογραφία
- το φαινόμενο του «Πρωτέα»

2.5.1) Ξενόγλωσση βιβλιογραφία:

Οι έρευνες που πραγματοποιούνται στις μη-Αγγλόφωνες χώρες μπορεί να δημοσιευθούν είτε στα περιοδικά της αγγλικής γλώσσας, που καταχωρούνται συνήθως σε σημαντικές διεθνείς βιβλιογραφικές βάσεις δεδομένων ή στα εγχώρια περιοδικά, πολλά από τα οποία δεν καταχωρούνται στις διεθνείς βάσεις δεδομένων. Υπάρχουν κάποια εμπειρικά στοιχεία ότι η απόφαση να δημοσιευθούν στα διεθνή έναντι στα εγχώρια περιοδικά μπορεί να επηρεαστεί από τη φύση των αποτελεσμάτων. Τα σημαντικά αποτελέσματα μπορούν να δημοσιευθούν στα διεθνή περιοδικά, ενώ τα ασήμαντα αποτελέσματα εμφανίζονται στην τοπική βιβλιογραφία, με συνέπεια τη γλωσσική προκατάληψη («ο πύργος της Βαβέλ») [20].

Η κινεζική βιβλιογραφία είναι ένα προεξέχον παράδειγμα της ξενόγλωσσας βιβλιογραφίας, επειδή ένας μεγάλος αριθμός κινέζικων επιστημονικών περιοδικών δεν είναι καταχωρημένος στις διεθνείς βάσεις δεδομένων. Η Κίνα αποτελεί το ένα πέμπτο του παγκόσμιου πληθυσμού, και αυτή η έρευνα είναι σημαντικής σπουδαιότητας όχι μόνο για την Κίνα, αλλά και διεθνώς. Έχει υπολογιστεί ότι γενικά, για κάθε διεθνώς συνταγμένη δημοσίευση από την Κίνα, υπάρχουν 18 δημοσιεύσεις σε τοπικά περιοδικά. Οι συνέπειες των επιλεγμένων δημοσιεύσεων για την ανθρώπινη έρευνα επιδημιολογίας γονιδιώματος και για τη βιοϊατρική έρευνα γενικά είναι άγνωστες [21].

2.5.2) «Γκρίζα» βιβλιογραφία:

Πολλές μελέτες οι οποίες πραγματοποιούνται σε παγκόσμια κλίμακα, πολλές φορές δεν δημοσιεύονται σε περιοδικά ή σε ιατρικές βάσεις δεδομένων στο διαδίκτυο γιατί τα αποτελέσματά τους είναι ή μετριοπαθή ή αρνητικά. Έτσι, σε αυτές τις μελέτες δεν μπορούμε να έχουμε πρόσβαση, καθώς υπάρχουν μόνο σε έντυπη μορφή. [22]

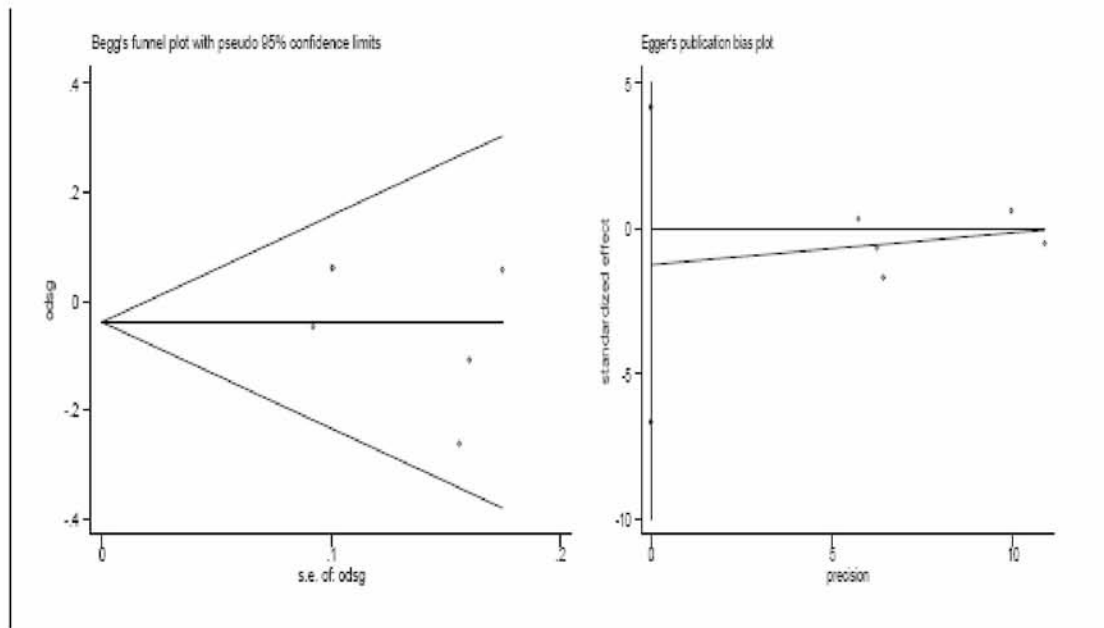
2.5.3) «Το φαινόμενο του Πρωτέα»:

Εδώ παρουσιάζουμε ένα ακόμη πρόβλημα βιβλιογραφίας που οδηγεί στην εμφάνιση των ακραίων, αντιφατικών συμπερασμάτων που εντοπίζεται κατά τη διάρκεια της συσσώρευσης των επιστημονικών στοιχείων. Οι σύγχρονες τεχνολογίες έχουν μειώσει δραστικά το χρόνο που απαιτείται για να παραχθούν τα πειραματικά δεδομένα και με τον τρόπο αυτό έχουν αντιστρέψει τη χρονική σχέση μεταξύ της παραγωγής και της ανάλυσης δεδομένων. Αυτή η πρόοδος παρέχει τις ευκαιρίες για τη γρήγορη παραγωγή και τη διάδοση των επιστημονικών πληροφοριών. Αυτή η γρήγορη, πρόωγη διαδοχή των ακραίων συμπερασμάτων καλείται «φαινόμενο του Πρωτέα». Το όνομά του το πήρε από τον αρχαίο θεό Πρωτέα ο οποίος άλλαζε συνεχώς μορφές [13]. Το σημαντικότερο πρόβλημα είναι ότι εάν το φαινόμενο υπάρχει, μπορούμε εσφαλμένα να δηλώσουμε τη στατιστική σημασία μιας ένωσης που δεν υπάρχει ή ορίζει μια μεγαλύτερη εκτίμηση για το θεωρούμενο κίνδυνο που συνδέεται με έναν γενετικό παράγοντα [13].

Το φαινόμενο της «γκρίζας» βιβλιογραφίας αλλά και το φαινόμενο της ξενόγλωσσης βιβλιογραφίας αποτελούν μέρη του λεγόμενου συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης (publication bias). Ο λόγος για τον οποίο εμφανίζονται τα δύο παραπάνω προβλήματα είναι γιατί οι μελέτες με «θετικά» ευρήματα δημοσιεύονται πιο γρήγορα από ότι αυτές που δεν έχουν αποδείξει κάποια συσχέτιση. Τα φαινόμενα αυτά εντοπίζονται εκτελώντας στο STATA10 την παρακάτω εντολή:

- `metabias odst stdodst, gr(b)`
- `metabias odst stdodst, gr(e)`

Το αποτέλεσμα των παραπάνω εντολών είναι ένα διάγραμμα το οποίο ονομάζεται «funnel plot». Σε αυτό απεικονίζονται όλες οι μελέτες, τις οποίες εξετάζουμε για το σφάλμα δημοσίευσης, με τη μορφή σημείων. Η εντολή αυτή χρησιμοποιείται για να ελέγξουμε εάν υπάρχει ασυμμετρία στο funnel plot λόγω του σφάλματος δημοσίευσης. Η εντολή `metabias` χρησιμοποιεί τη μέθοδο του Begg and Mazumdar's και το test του Egger. Το test του Egger, (όρισμα `gr(e)`) δίνει καλύτερα αποτελέσματα από του Begg, (όρισμα `gr(b)`) όταν υπάρχει έλλειψη σφάλματος ή μικρός αριθμός μελετών (εικόνα 10).



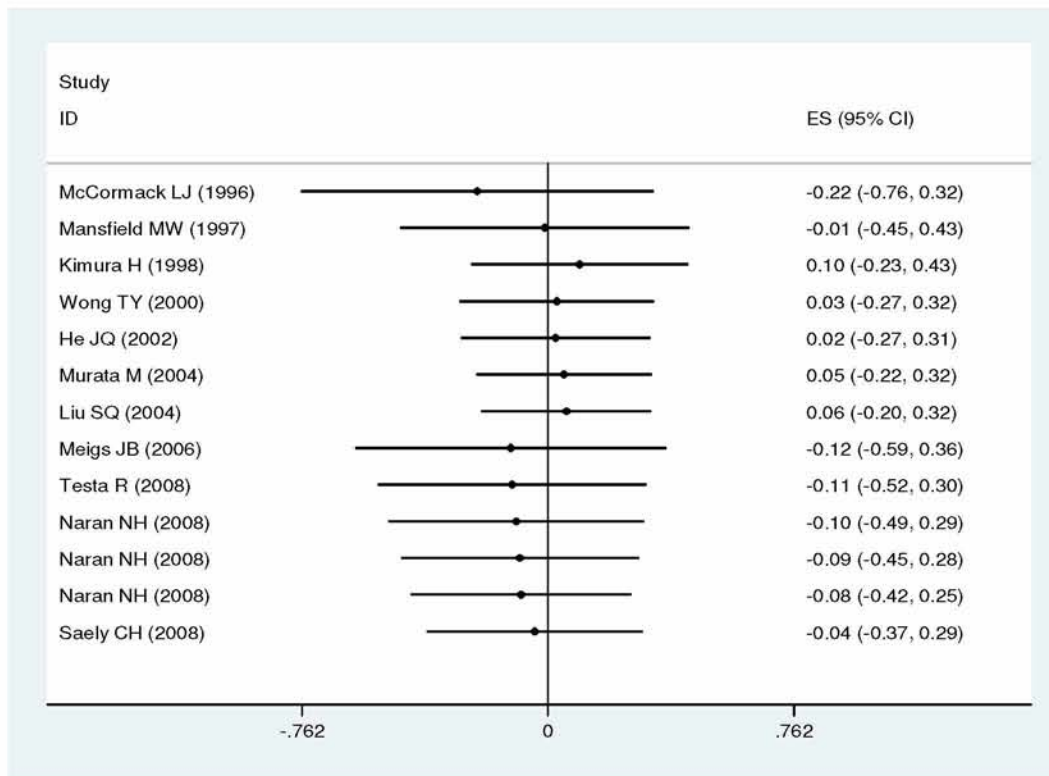
Εικόνα 10: Αριστερά: το διάγραμμα του Begg, όταν οι μελέτες είναι συμμετρικές ως προς τον εκτιμητή (logor) τότε δεν υπάρχει σφάλμα δημοσίευσης. Δεξιά: διάγραμμα του Egger, όταν το διάστημα εμπιστοσύνης περιέχει την τιμή 0, τότε δεν υπάρχει σφάλμα δημοσίευσης. (P-value για το test Egger όταν υπάρχει σφάλμα είναι 0.007).

Η αθροιστική μετά-ανάλυση αυξάνει στοιχεία προσθέτοντας βαθμιαία τις μελέτες μία-μία σε έναν χρόνο με μια διευκρινισμένη διαταγή (π.χ., σύμφωνα με την ημερομηνία της δημοσίευσης, τον αριθμό συμμετεχόντων, ή την ποιότητα) και παρέχει την ενημερωμένη συγκεντρωμένη εκτίμηση μαζί με το διάστημα εμπιστοσύνης του (CI) όποτε ένα νέο κομμάτι των στοιχείων προκύπτει.

Η σύνταξη της εντολής είναι:

- `sort year`
- `metacum a4 se_4, randomi`
`label(namevar=author, yearvar=year)`

Το αποτέλεσμα της οποίας είναι ένα διάγραμμα, που στην αριστερή πλευρά του έχει με χρονολογική σειρά τους συγγραφείς των άρθρων, στη δεξιά το μέγεθος επίδρασης (OR) και στο κέντρο εμφανίζονται διαγραμματικά τα ORs των αντίστοιχων άρθρων. Η ακριβής μορφή του είναι όπως παρουσιάζεται στην εικόνα 11.

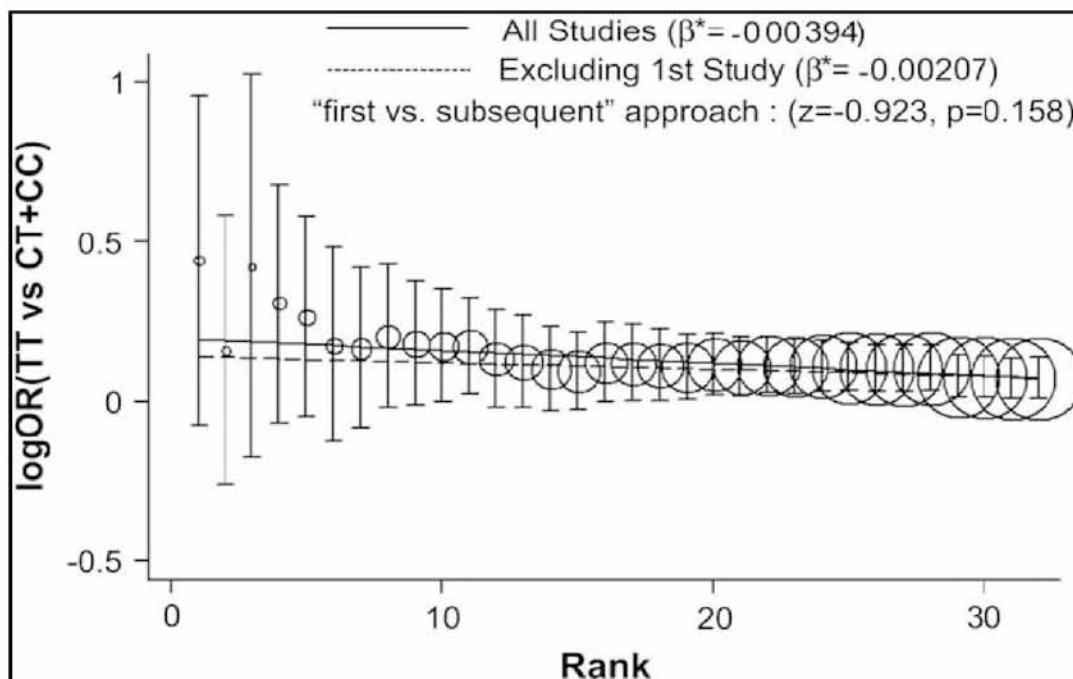


Εικόνα 11: plot της αθροιστικής μετά-ανάλυσης

Ένα πρόβλημα που είναι αρκετά συχνό στην αθροιστική μετά-ανάλυση είναι η ύπαρξη διαχρονικής τάσης στους εκτιμητές. Η ύπαρξη της οφείλεται στο γεγονός ότι, κάποια στιγμή στο παρελθόν κάποιος είχε αποδείξει ότι υπήρχε συσχέτιση μεταξύ κάποιας ασθένειας με κάποιον πολυμορφισμό. Λόγω της σημαντικότητας της απόδειξης αυτής η επιστημονική κοινότητα, ερευνά περισσότερο τη συγκεκριμένη συσχέτιση και καταλήγει σε διαφορετικά αποτελέσματα από την αρχική μελέτη. Αυτό μπορεί να γίνει αντιληπτό εκτελώντας την εντολή:

- `metatrend odsg stdodsg`

στο πρόγραμμα του STATA10. Το αποτέλεσμα είναι ο έλεγχος του p-value, το οποίο εάν είναι μικρότερο από 0.05 τότε μπορούμε να ισχυριστούμε ότι υπάρχει διαχρονική τάση (trend) στις μελέτες. Η διαχρονική τάση, εμφανίζεται διαγραμματικά ως εξής (εικόνα 12):



Εικόνα 12: Το αποτέλεσμα της εκτέλεσης της εντολής metatrend. Οι μελέτες εμφανίζονται με χρονολογική σειρά. Στον άξονα x παρουσιάζεται ο αριθμός των μελετών ενώ ο άξονας y απεικονίζει το διάστημα εμπιστοσύνης με το OR. Η κλίση της ευθείας φανερώνει τη διαχρονική τάση [23].

2.6) Έλεγχος Ισορροπίας Hardy-Weinberg (HWE):

Αμέσως μετά την εκτέλεση των παραπάνω υπολογισμών, ακολουθεί η διαδικασία ελέγχου της ισορροπίας Hardy-Weinberg. Η ισορροπία Hardy-Weinberg χρησιμοποιείται για να περιγράψει γονιδιακές συχνότητες σε στατικούς από πλευράς εξέλιξης πληθυσμούς. Τέτοιοι πληθυσμοί ονομάζονται «πληθυσμοί που βρίσκονται σε ισορροπία κατά Hardy-Weinberg». Σύμφωνα με το θεώρημα αυτό, οι συχνότητες των αλληλομόρφων σε ένα πληθυσμό παραμένουν σταθερές κατά τις διάφορες γενιές, αν δεν επιδράσουν άλλοι παράγοντες όπως επιλογή, μετάλλαξη, τυχαία γενετική παρέκκλιση, ροή γονιδίων και τυχαίο ζευγάρωμα. Η ισορροπία Hardy-Weinberg στηρίζεται στην προϋπόθεση ότι η διαδικασία της επιλογής δεν ευνοεί τον ένα γονότυπο έναντι του άλλου, ότι δεν εμφανίζεται μετανάστευση αλληλομόρφων γονιδίων από ή προς τον πληθυσμό και ότι ο πληθυσμός είναι μεγάλος ώστε οι αλλαγές στις συχνότητες των αλληλομόρφων γονιδίων λόγω τύχης να είναι ασήμαντες.

Ο νόμος της ισορροπίας Hardy-Weinberg δηλώνει την εξής υπόθεση: Αν δύο αλληλόμορφα γονίδια, στη δική μας περίπτωση 4G και 5G έχουν συχνότητες p & q αντίστοιχα, και ο πληθυσμός τους βρίσκεται σε ισορροπία, τότε το ποσοστό αυτών με γονοτύπους 4G/4G, 4G/5G & 5G/5G θα είναι $p^2 + 2 * p * q + q^2$ αντίστοιχα. Ο νόμος αυτός διατυπώθηκε για πρώτη φορά από τους Hardy και Weinberg (1908). Οι αναλογίες των γονοτύπων δεν μεταβάλλονται από γενιά σε γενιά, αν δεν διαταραχθεί κανένας παράγοντας από όσους μπορούν να επηρεάσουν τις συχνότητες των γονοτύπων.

Συνοπτικά, οι προϋποθέσεις εξασφάλισης της ισορροπίας είναι: α) το πλήθος των ατόμων στον πληθυσμό να είναι πρακτικά άπειρο. Σε πληθυσμούς με ορισμένο μέγεθος έχουμε ένα συστηματικό σφάλμα, επειδή όλοι οι δυνατοί διαφορετικοί φαινότυποι δεν αντιπροσωπεύονται στον πληθυσμό. Αυτό συμβαίνει κυρίως όταν υπάρχει ένας σχετικά μεγάλος αριθμός αλληλομόρφων με πολύ χαμηλές συχνότητες,

β) οι δυνατές συζεύξεις μεταξύ των ατόμων είναι ελεύθερες και τυχαίες, γ) όλα τα αλληλόμορφα γονίδια έχουν την ίδια πιθανότητα να περάσουν στους γαμέτες και έτσι συνεισφέρουν στον ίδιο βαθμό στη συγκρότηση της γονιδιακής δεξαμενής, δ) στη γονιδιακή δεξαμενή δεν προστίθεται και δεν απομακρύνεται οποιοδήποτε αλληλόμορφο, όπως επίσης δεν δημιουργείται κάποιο νέο.

Για τα συνεχή χαρακτηριστικά, στη περίπτωση μας η γλυκόζη και η ινσουλίνη, η ισορροπία Hardy-Weinberg, θα πρέπει να ελέγχεται 'βλέποντας' τα άτομα ως μία μεγάλη ομάδα. Για τα διακριτά χαρακτηριστικά, στη περίπτωση μας ο σακχαρώδης διαβήτης, όπου οι μελέτες είναι ασθενών-μαρτύρων, η ισορροπία θα πρέπει να ελέγχεται μόνο στους υγιείς καθώς αν υπάρχει, όντως, συσχέτιση μεταξύ γονοτύπου και ασθένειας, οι ασθενείς ενδέχεται να μην είναι σε ισορροπία [17]. Για τον έλεγχο της ισορροπίας στο στατιστικό πακέτο STATA10, χρησιμοποιείται η εντολή **genhwi** με ορίσματα τα πλήθη του κάθε γονοτύπου, δηλαδή:

genhwi naa nab nbb, για τα συνεχή χαρακτηριστικά

genhwi naa0 nab0 nbb0, για τα διακριτά και μόνο για τον υγιή πληθυσμό

Ένα παράδειγμα εκτέλεσης της παραπάνω διαδικασίας είναι:

```
genhwi 123 253 148
```

δίνοντας αποτέλεσμα:

Genotype	Observed	Expected
AA	123	118.80
Aa	253	261.40
aa	148	143.80
total	524	524.00

Allele	Observed	Frequency	Std. Err.
A	499	0.4761	0.0157
a	549	0.5239	0.0157
total	1048	1.0000	

Estimated disequilibrium coefficient (D) = 0.0080

Hardy-Weinberg Equilibrium Test:

Pearson chi2 (1) =	0.542	Pr= 0.4618
likelihood-ratio chi2 (1) =	0.542	Pr= 0.4618
Exact significance prob =		0.4836

Πίνακας 2.7: Αποτελέσματα της εντολής genhwi για την ισορροπία HWE. Όταν το p-value είναι μικρότερο από 5% τότε ο πληθυσμός δεν βρίσκεται σε ισορροπία διαφορετικά βρίσκεται.

Η ισορροπία ελέγχθηκε σε κάθε μελέτη ξεχωριστά. Οι αριθμοί 123 253 και 148 αναφέρονται στον αριθμό των γονοτύπων των μαρτύρων της συγκεκριμένης μελέτης (πίνακας 2.7). Στη συγκεκριμένη περίπτωση ο πληθυσμός βρίσκεται σε ισορροπία καθώς το p-value είναι μεγαλύτερο από 0.05.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1) Αναζήτηση στη βάση δεδομένων της Pubmed:

Για την υλοποίηση της εργασίας μας πραγματοποιήθηκαν δύο αναζητήσεις στη βάση δεδομένων της Pubmed. Πιο συγκεκριμένα: Χρησιμοποιήσαμε δύο queries για τον εντοπισμό άρθρων που σχετίζονταν με το σακχαρώδη διαβήτη και το πολυμορφισμό PAI-1 4G/5G. Τα queries αυτά (βλέπε Υλικά και μέθοδοι, παράγραφος 2.1) είχαν τα εξής αποτελέσματα.

Κατά την εκτέλεση της πρώτης αναζήτησης (1^ο query), το αποτέλεσμα αυτής ήταν 269 άρθρα, ενώ κατά τη διεξαγωγή της δεύτερης αναζήτησης (2^ο query) τα άρθρα ήταν 268. Ωστόσο, από το σύνολο όλων αυτών των άρθρων χρησιμοποιήθηκαν τα 23. Από αυτά τα 11 αναφερόντουσαν στη συσχέτιση του σακχαρώδη διαβήτη με το πολυμορφισμό PAI-1 4G-5G, τα 12 αναφερόντουσαν στη συσχέτιση της γλυκόζης με τον ίδιο πολυμορφισμό ενώ τα 9, στην ινσουλίνη με τον πολυμορφισμό. Οι υπόλοιπες μελέτες απορρίφθηκαν για τους εξής λόγους:

- είτε γιατί δεν εξέταζαν τον πολυμορφισμό αυτό,
- είτε γιατί δεν εξέταζαν την ασθένεια του σακχαρώδη διαβήτη,
- είτε γιατί δεν έδιναν στοιχεία (αριθμό) για τους γονότυπους αλλά ορισμένες φορές μόνο τα κλινικά χαρακτηριστικά τους,
- είτε ήταν περιπτώσεις-άρθρου μελέτες (case-report) ή οικογενειακές μελέτες (family-study),
- είτε αναφέρονταν σε ποντίκια,
- είτε αναφέρονταν σε καρκινικά κύτταρα.

Οι μελέτες οι οποίες τελικά χρησιμοποιήθηκαν παρατίθενται στο πίνακα 3.1 μαζί με το κωδικό (PMID) με τον οποίο είναι καταχωρημένες στη βάση δεδομένων της Pubmed, τον συγγραφέα της κάθε μελέτης, τη χώρα, την πόλη αλλά και τη φυλή στην οποία έγινε η κάθε μελέτη και τέλος για καθεμία από αυτές προσδιορίζονται τα συνεχή χαρακτηριστικά (γλυκόζη και ινσουλίνη) ή το διακριτό χαρακτηριστικό (σακχαρώδης διαβήτης). Οι μελέτες οι οποίες δεν χρησιμοποιήθηκαν αναρτώνται στο παράρτημα (Πίνακας 6.1).

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε η διαδικασία της μετά-ανάλυσης :

- 1) Για τη συσχέτιση του πολυμορφισμού PAI-1 4G-5G με την ασθένεια του σακχαρώδη διαβήτη,
- 2) για τη συσχέτιση του πολυμορφισμού PAI-1 4G-5G με τα επίπεδα της ινσουλίνης στο αίμα σε άτομα που ήταν είτε ασθενείς (όχι απαραίτητα από διαβήτη αλλά από οποιαδήποτε ασθένεια) είτε υγιείς και
- 3) για τη συσχέτιση του πολυμορφισμού PAI-1 4G-5G με τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα σε άτομα που ήταν είτε ασθενείς (όχι απαραίτητα από διαβήτη αλλά από οποιαδήποτε ασθένεια) είτε υγιείς.

Πιο συγκεκριμένα θα παρατεθούν τα αποτελέσματα των εντολών που δόθηκαν δηλαδή οι πίνακες και τα διαγράμματα.

Πίνακας 3.1: Οι μελέτες οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν στη παρούσα εργασία για τη διαδικασία της μετά-ανάλυσης (συνολικά).

AUTHOR	YEAR	COUNTRY	RACE	CITY	DATA
Saely CH[23]	2008	AUSTRIA	Caucasians	Feldkirch	diabetes
Naran NH[24]	2008	SOUTH AFRICA	Indians	Johannesburg	diabetes
Naran NH[24]	2008	SOUTH AFRICA	Caucasians	Johannesburg	diabetes
Naran NH[24]	2008	SOUTH AFRICA	Africans	Johannesburg	diabetes
Testa R[25]	2008	ITALY	Caucasians	Ancona	Diabetes, glucose
Meigs JB[26]	2006	USA	Caucasians	Framingham	diabetes
Liu SQ[27]	2004	CHINA	Asians	Guangzhou	diabetes
Murata M[28]	2004	JAPAN	Asians	Saitama	diabetes
He JQ[29]	2002	USA	Caucasians	Seattle	diabetes
Wong TY[30]	2000	HONG KONG	Asians	Shatin	diabetes
Kimura H[12]	1998	JAPAN	Asians	Fukui	diabetes
Mansfield MW[31]	1997	UK	Caucasians	Leeds	diabetes
McCormack LJ[32]	1996	UK	mixed	Leeds&Wakefield & London&Arizona	diabetes
Lopez-Bermejo A[33]	2007	SPAIN	Caucasians	Barcelona	Glucose ,insulin
Kinik ST[34]	2005	TURKEY	Caucasians	Ankara	Glucose ,insulin
Kitamura Y[35]	2004	JAPAN	Asians	Nagoya	Glucose ,insulin
Roncal C[36]	2004	SPAIN	Caucasians	Pamplona	
Lopes C[37]	2003	Uk&France	Caucasians	London&Lille	Glucose ,insulin
Jeng JR[38]	2003	TAIWAN	Asians	Taipei,Taiwan	
Brown NJ[39]	2001	USA	Caucasians	Boston	Glucose ,insulin
van Harmelen V[40]	2000	SWEDEN	Caucasians	Stockholm	Glucose ,insulin
Cesari M[41]	1999	ITALY	Caucasians	Padova	glucose
Nagi DK[42]	1997	USA	Indians	Arizona	glucose
Rafael Segui[43]	2000	SPAIN	Caucasians	Valencia	glucose
Estellés A[44]	2001	SPAIN	Caucasians	Valencia	insulin

3.2) Μετά-ανάλυση με χρήση του προγράμματος STATA10

Η σύμπτυξη των γονοτύπων έγινε εντοπίζοντας το γονίδιο που προκαλεί την ασθένεια. Στη δική μας την περίπτωση το αλληλόμορφο που προκαλεί την ασθένεια είναι το 4G/4G και το 5G/5G είναι το φυσιολογικό. Έτσι προκύπτουν οι εξής συγκρίσεις:

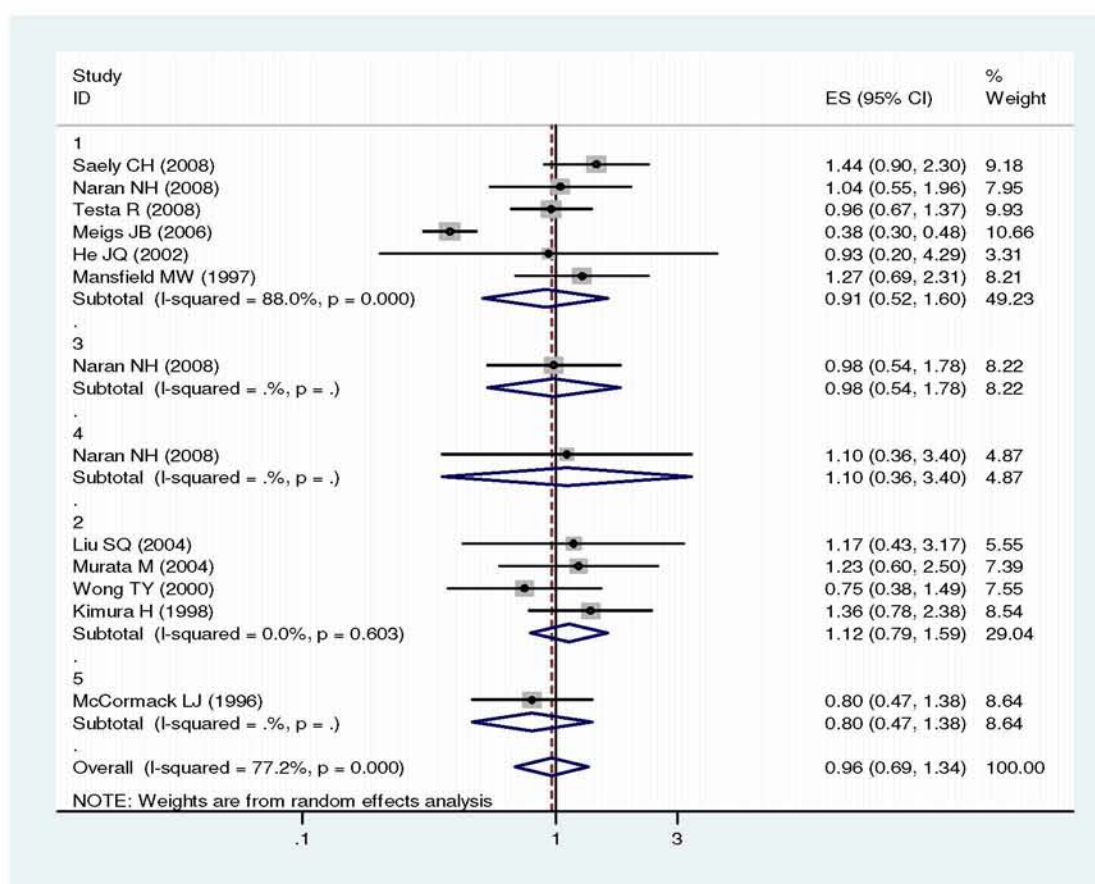
- i. ο γονότυπος 4G/4G (προκαλεί την ασθένεια) έναντι των υπολοίπων 4G/5G & 5G/5G (φυσιολογικό)
- ii. ο γονότυπος 4G/5G & 4G/4G έναντι 5G/5G
- iii. ο γονότυπος 4G/4G έναντι 5G/5G

Στη συνέχεια για να γίνουν πιο αντιληπτά τα αποτελέσματα των μετά-αναλύσεων θα παρατεθούν σε διαφορετικές παραγράφους τα διακριτά και τα συνεχή χαρακτηριστικά.

3.2.1) Μετά-ανάλυση στα διακριτά χαρακτηριστικά

Ο διαβήτης καταχωρήθηκε σαν διακριτό δεδομένο δηλαδή καταχωρήσαμε μόνο τον αριθμό των γονοτύπων για τους ασθενείς και τους μάρτυρες. Κάθε μελέτη που εξετάσαμε ανέφερε τον αριθμό των ατόμων που έχουν γονότυπο 5G/5G, 4G/5G και 4G/4G (Πίνακας 3.2). Συνολικά ο αριθμός των ασθενών και των μαρτύρων που αφορούσαν το διαβήτη ήταν 2931 και 2849, αντίστοιχα.

Όπως ήδη έχει γίνει αναφορά, κατά τη διαδικασία της διερεύνησης της συσχέτισης του συγκεκριμένου πολυμορφισμού με την ασθένεια του σακχαρώδη διαβήτη, πραγματοποιήθηκαν τρεις μετά-αναλύσεις σύμφωνα με το μοντέλο κληρονομικότητας. Για την περίπτωση της σύμπτυξης 4G/4G vs 4G/5G&5G/5G, το αποτέλεσμα ήταν η παρακάτω εικόνα (εικόνα 13).



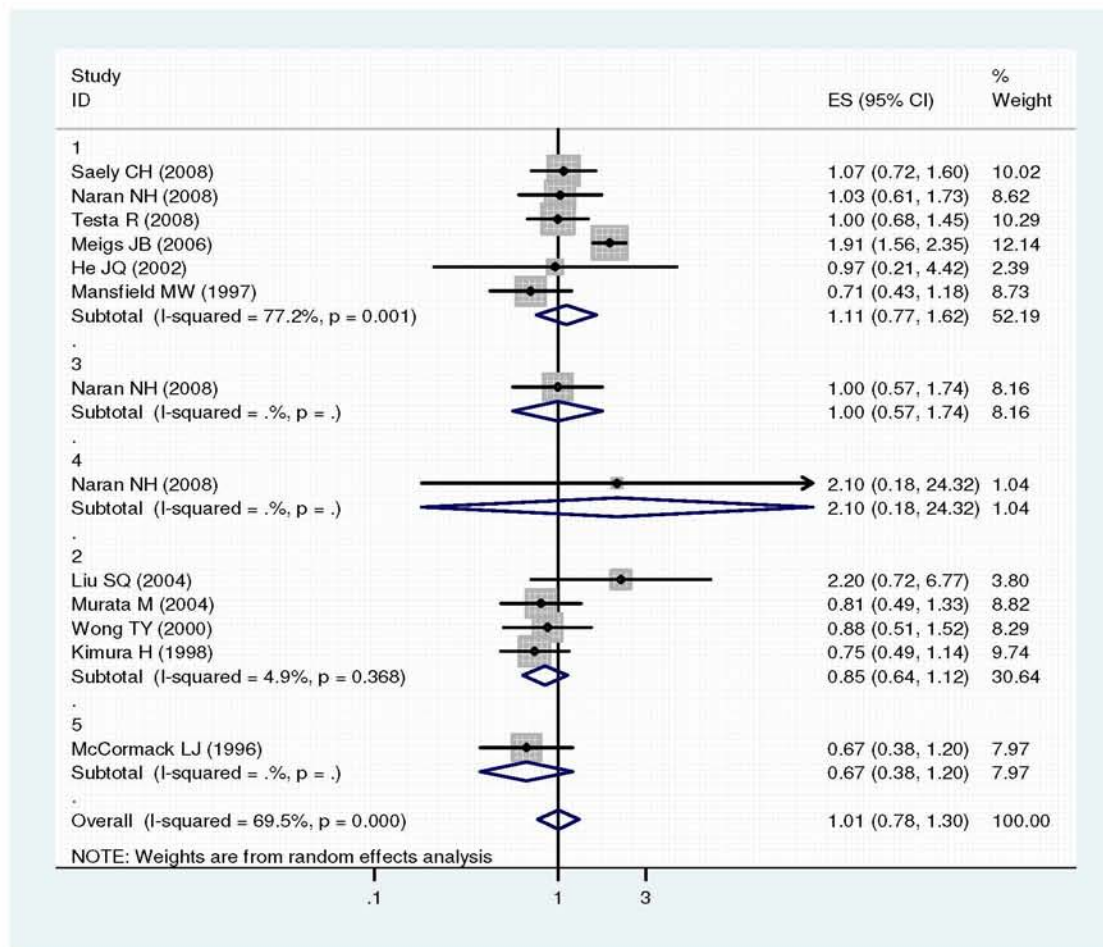
Εικόνα 13: forest plot της εντολής metan. Εδώ, στην αριστερή πλευρά παρουσιάζονται οι μελέτες με το συγγραφέα τους και την ημερομηνία χωρισμένες ανάλογα με τη φυλή στην οποία ανήκει η καθεμία ενώ στη δεξιά πλευρά παρουσιάζεται το αντίστοιχο OR και το 95%διάστημα εμπιστοσύνης της κάθε μελέτης. Στο κέντρο εμφανίζεται διαγραμματικά το OR (95% coefficient interval).

Πίνακας 3.2: Μελέτες οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή της μέτα-ανάλυσης για τη συσχέτιση του σακχαρώδη διαβήτη με το πολυμορφισμό 4G-5G του γονιδίου PAI-1 (διακριτό χαρακτηριστικό).

					CASE			CONTROL				
AUTHOR	YEAR	COUNTRY	RACE	TOWN	nbb1	nab1	naa1	nbb0	nab0	naa0	Number_of_cases	Number_of_controls
Saely CH	2008	AUSTRIA	Caucasians	Feldkirch	44	78	26	148	253	123	148	524
Naran NH	2008	SOUTH AFRICA	Indians	Johannesburg	24	28	19	81	95	63	71	239
Naran NH	2008	SOUTH AFRICA	Caucasians	Johannesburg	35	42	18	63	77	34	95	174
Naran NH	2008	SOUTH AFRICA	Africans	Johannesburg	1	4	16	2	17	67	21	86
Testa R	2008	ITALY	Caucasians	Ancona	72	140	83	71	140	79	295	290
Meigs JB	2006	USA	Caucasians	Framingham	431	542	372	163	556	105	1345	824
Liu SQ	2004	CHINA	Asians	Guangzhou	42	75	30	4	16	6	147	26
Murata M	2004	JAPAN	Asians	Saitama	78	86	24	43	35	14	188	92
He JQ	2002	USA	Caucasians	Seattle	3	3	3	15	15	14	9	44
Wong TY	2000	HONG KONG	Asians	Shatin	46	66	28	34	46	15	140	95
Kimura H	1998	JAPAN	Asians	Fukui	64	116	28	66	80	31	208	177
Mansfield MW	1997	UK	Caucasians	Leeds	37	71	23	52	63	31	131	146
McCormack	1996	UK	mixed	Leeds&Wake field&London &Arizona	26	68	39	35	64	33	133	132
										TOTAL	2931	2849

Με τη χρήση του παραπάνω διαγράμματος οδηγηθήκαμε στο εξής συμπέρασμα: Ελέγχοντας μόνο το συνολικό OR (overall), δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του γονοτύπου 4G/4G με το σακχαρώδη διαβήτη, καθώς στο διάστημα εμπιστοσύνης εμπεριέχεται η τιμή 1. Έτσι, τα άτομα που φέρουν αυτόν τον συγκεκριμένο γονότυπο, δεν έχουν κάποια επιπλέον πιθανότητα να εμφανίσουν σακχαρώδη διαβήτη σε σχέση με τα άτομα που φέρουν τον γονότυπο 4G/5G&5G/5G, ανεξάρτητα από τη φυλή στην οποία ανήκουν.

Πέρα, όμως από τον έλεγχο του επικρατές γονιδίου, πρέπει να πραγματοποιηθεί μετά-ανάλυση και στο υπολειπόμενο αλλά και στο συνεπικρατές γονίδιο. Οι εντολές έχουν ακριβώς την ίδια μορφή με μοναδική διαφορά τις διαφορετικές παραμέτρους. Το αποτέλεσμα είναι πάλι ένα forest plot με τα ίδια χαρακτηριστικά (εικόνα 14).

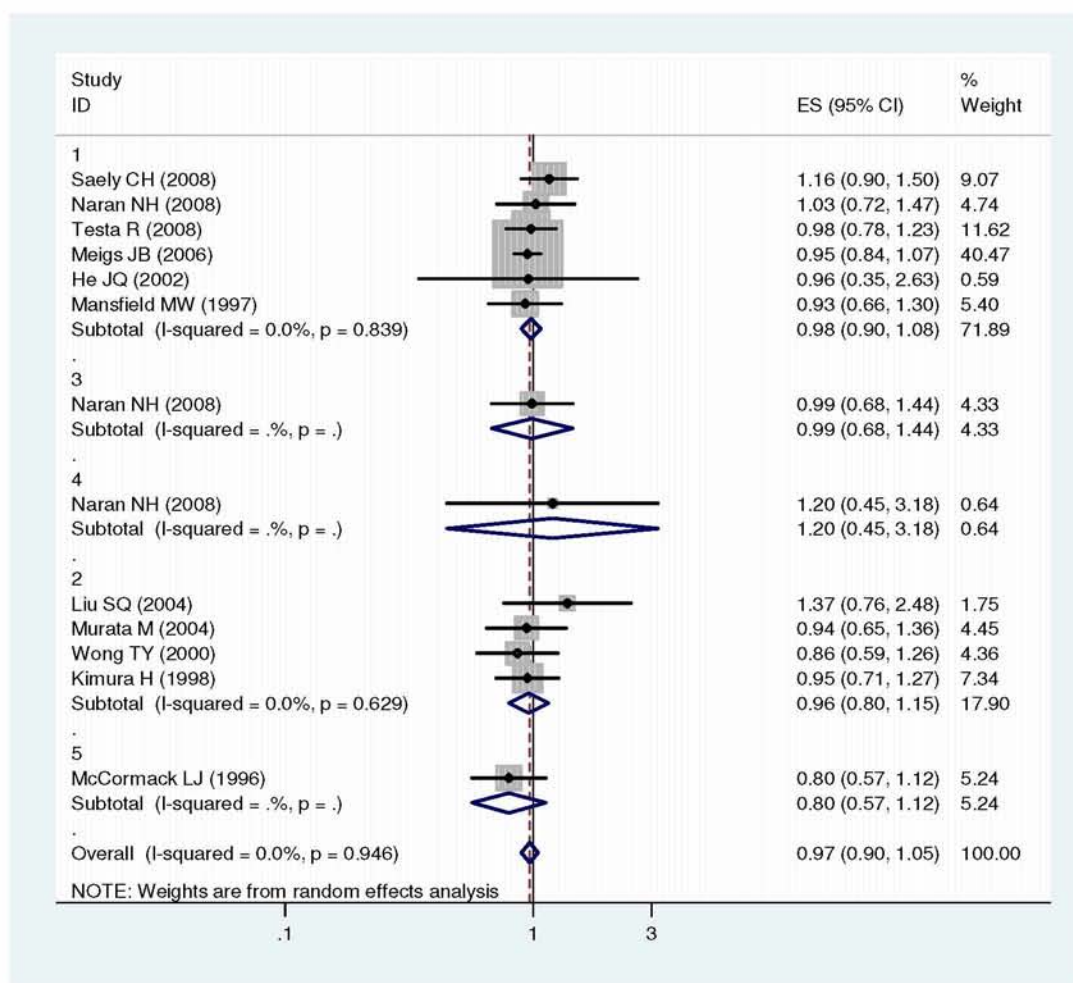


Εικόνα 14: forest plot για τη μετά-ανάλυση του υπολειπόμενου γονιδίου. Τα χαρακτηριστικά στο διάγραμμα είναι τα ίδια με το παραπάνω διάγραμμα. Οι μελέτες είναι ταξινομημένες ανάλογα με τη φυλή στην οποία έχει πραγματοποιηθεί η κάθε μελέτη.

Παρατηρώντας το συνολικό OR μπορούμε να συμπεράνουμε ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του γονοτύπου 5G/5G με το σακχαρώδη διαβήτη, καθώς στο διάστημα εμπιστοσύνης εμπεριέχεται η τιμή 1. Τα άτομα που φέρουν αυτόν το γονότυπο δεν παρουσιάζουν κάποια επιπλέον πιθανότητα εμφάνισης σακχαρώδη διαβήτη σε σχέση με τα άτομα που φέρουν το γονότυπο 4G/4G&4G/5G.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε και ο έλεγχος για τη σύμπτυξη 4G/4G vs 5G/5G. Το αντίστοιχο forest plot παρουσιάζεται στην εικόνα 15. Σαν συμπέρασμα και σε αυτή τη περίπτωση είναι και πάλι το γεγονός ότι, δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των γονοτύπων 4G/4G, 5G/5G με το σακχαρώδη διαβήτη, αφού στο συνολικό OR στο διάστημα εμπιστοσύνης εμπεριέχεται η τιμή 1. Με άλλα λόγια, τα άτομα που φέρουν είτε το γονότυπο 4G/4G είτε το γονότυπο 5G/5G, δεν παρουσιάζουν κάποια επιπλέον πιθανότητα εμφάνισης του σακχαρώδη διαβήτη.

Συγκεντρωτικά, μπορούμε να καταλήξουμε στο γεγονός ότι δεν υπάρχει συσχέτιση του πολυμορφισμού 4G 5G του γονιδίου PAI-1 με την εμφάνιση της ασθένειας του σακχαρώδη διαβήτη σε οποιαδήποτε φυλή και αν διεξάγεται η μελέτη (πίνακας 3.2). Αυτό μπορούμε να το διαπιστώσουμε και από τις τιμές των p-value οι οποίες είναι μεγαλύτερες από 0.05. Επομένως, ο παράγοντας «φυλή» δεν επηρεάζει την εμφάνιση της ασθένειας σε κάποιο πληθυσμό.



Εικόνα 15: forest plot της εντολής metan. Τα χαρακτηριστικά στο διάγραμμα είναι τα ίδια με τα παραπάνω διαγράμματα. Οι μελέτες είναι ταξινομημένες ανάλογα με τη φυλή στην οποία έχει πραγματοποιηθεί η κάθε μελέτη.

Ο έλεγχος για την ετερογένεια έδειξε ότι αυτή υπάρχει σε μεγάλο βαθμό και αυτό ήταν αναμενόμενο καθώς εξετάζονται μελέτες με δείγμα από διάφορες εθνικότητες. Ο συγκεντρωτικός πίνακας της μετά-ανάλυσης για τη συσχέτιση της ασθένειας με το πολυμορφισμό και για τις τρεις συγκρίσεις (επικρατές, υπολειπόμενο και συνεπικρατές) σε όλη αφορά την ετερογένεια σε σχέση με τη φυλή και σε σχέση

με την ισορροπία Hardy-Weinberg παρατίθεται στο πίνακα 3.3. Όπως είναι φανερό για το επικρατές και το υπολειπόμενο γονίδιο έχουμε μεγάλη ετερογένεια, καθώς το I^2 είναι μεγάλο ενώ για συνεπικρατές γονίδιο δεν έχουμε ετερογένεια, αφού το I^2 είναι μηδέν. Η συνθήκη που χρησιμοποιήσαμε για τον έλεγχο της ισορροπίας ήταν:

0: είναι σε ισορροπία Hardy-Weinberg

1: δεν είναι σε ισορροπία Hardy-Weinberg

Οι μελέτες που ήταν σε ισορροπία ήταν 10 ενώ δεν ήταν σε ισορροπία 3. Η εντολή `metan` εκτελέστηκε και πάλι, αλλά αυτή τη φορά σαν όρισμα στη μεταβλητή `by()` βάλαμε `hwe` αντί `fyli` (όπως στη προηγούμενη μετά-ανάλυση), δηλαδή:

```
❖ metan logor_dom se_dom, randomi  
  label(namevar=author, yearvar=year) by(hwe)
```

Τα αποτελέσματα για την ετερογένεια σε σχέση με την ισορροπία είναι διαφορετικά. Για το επικρατές και υπολειπόμενο γονίδιο οι μελέτες που δεν ήταν σε ισορροπία παρουσίασαν ετερογένεια με το I^2 υψηλό. Για το συνεπικρατές, ετερογένεια δεν είχαμε ούτε στις μελέτες που ήταν σε ισορροπία ούτε και στις μελέτες που δεν ήταν.

Ο πίνακας 3.3 παρουσιάζει τα OR, το 95% διάστημα εμπιστοσύνης και τα τεστ σημαντικότητας (p -value) και των τριών περιπτώσεων: Τα αποτελέσματα για την ισορροπία δεν ήταν σημαντικά, καθώς το p -value σε καμία από τις περιπτώσεις ($hwe=0$, $hwe=1$) δεν είναι μικρότερο από 0.05 και στις τρεις ομάδες γονοτύπων. Επομένως η ισορροπία δεν συσχετίζεται με το πολυμορφισμό του γονιδίου PAI-1 για την ασθένεια του σακχαρώδη διαβήτη.

Μετά την εκτέλεση της μετά-ανάλυσης ακολούθησε η διαδικασία του ελέγχου του συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης, δηλαδή της γκρίζας και ξενόγλωσσης βιβλιογραφίας αλλά και του φαινομένου του Πρωτέα. Για την ανίχνευση του συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης, η εντολή που εκτελέστηκε ήταν η `metabias`. Πραγματοποιήθηκε και για τις τρεις ομάδες γονοτύπων και τα συνολικά αποτελέσματά τους παρουσιάζονται στο Πίνακα 3.4.

Όπως φαίνεται από το Πίνακα 3.4, συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης υπήρξε για το επικρατές γονίδιο καθώς το p -value είναι μικρότερο από 5%. Πιο συγκεκριμένα για την ακριβή παρουσίαση των αποτελεσμάτων, παραθέτουμε τα αποτελέσματα για το επικρατές γονίδιο το οποίο εμφάνισε και συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης (πίνακας 3.5).

Πίνακας 3.3: πίνακας συνολικής μέτα-ανάλυσης του πολυμορφισμού για την ετερογένεια σε σχέση με τη φυλή και σε σχέση με την ισορροπία.

Contrast	Sub-groups	number of studies	OR	95% CI	τ^2	Q-cochran	I ²	P-value of heterogeneity
4G/5G&5G/5G vs 4G/4G	All	13	1.005	0.775-1.303	0.1335	39.31	69.5%	0.000
	Caucasians	6	1.113	0.766-1.616	0.1478	21.93	77.2%	0.001
	Asians	4	0.850	0.643-1.125	0.0043	3.16	4.9%	0.368
	Hwe Equilibrium	10	0.079	-0.104 0.262	0.0000	5.20	0.0%	0.816
	Hwe dequilibrium	3	-0.459	-1.243 0.324	0.3351	9.16	78.2%	0.010
4G/5G+4G/4G vs 5G/5G	All	13	0.960	0.690-1.335	0.2510	52.61	77.2%	0.000
	Caucasians	6	0.908	0.516-1.599	0.3961	41.76	88.0%	0.000
	Asians	4	1.123	0.794-1.588	0.0000	1.86	0.0%	0.603
	Hwe Equilibrium	10	-0.110	-0.273 0.053	0.0000	6.88	0.0%	0.650
	Hwe dequilibrium	3	0.344	-0.196 0.884	0.1301	5.19	61.4%	0.075
4G allele vs 5G allele	All	13	0.969	0.896-1.047	0.0000	5.34	0.0%	0.946
	Caucasians	6	0.982	0.895-1.076	0.0000	2.07	0.0%	0.839
	Asians	4	0.960	0.798-1.155	0.0000	1.74	0.0%	0.629
	Hwe Equilibrium	10	-0.018	-0.123 0.088	0.0000	5.14	0.0%	0.822
	Hwe dequilibrium	3	-0.049	-0.165 0.067	0.0000	0.05	0.0%	0.977

Πίνακας 3.4: Πίνακας των συνολικών αποτελεσμάτων για το συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης στις τρεις ομάδες γονοτύπων και για τα δύο τεστ.

Contrast	P-value of test Begg	P-value of test Egger	95% CI
4G/4G vs 4G/5G&5G/5G	0.329	0.012	.8018413 5.274211
4G/5G&4G/4G vs 5G/5G	0.464	0.083	-3.930515 .2793057
4G/4G vs 5G/5G	0.464	0.488	-.5733527 1.127575

Πίνακας 3.5: Τα αποτελέσματα των μεθόδων Begg και Egger.

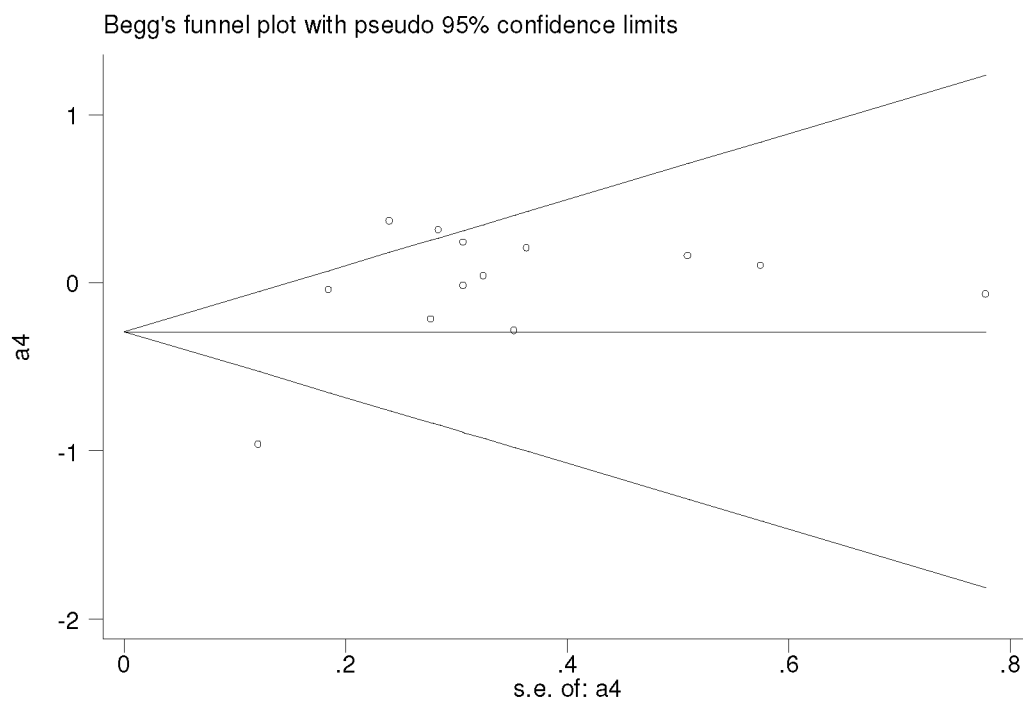
Tests for Publication Bias

Begg's Test

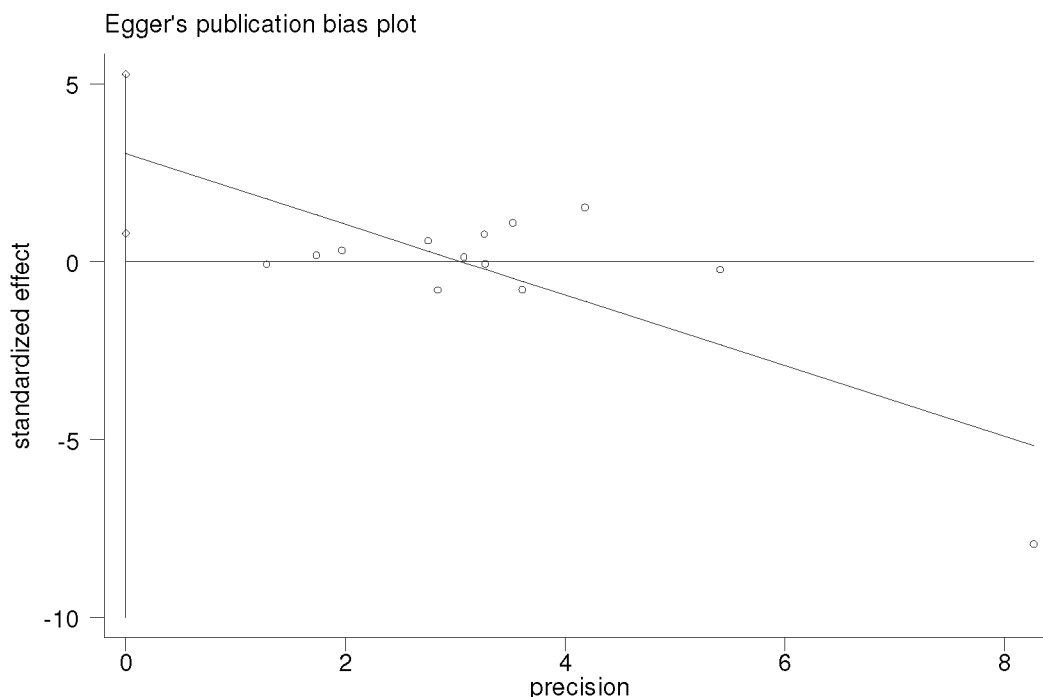
adj. Kendall's Score (P-Q) = -16
 Std. Dev. of Score = 16.39
 Number of Studies = 13
 z = -0.98
 Pr > |z| = 0.329
 z = 0.92 (continuity corrected)
 Pr > |z| = 0.360 (continuity corrected)

Egger's test

Std_Eff	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
Slope	-.9934741	.2618872	-3.79	0.003	-1.569884 -
Bias	3.038026	1.015993	2.99	0.012	.8018413
5.274211					



Εικόνα 16: Funnel plot του τεστ του Begg. Παρατηρούμε ότι οι μελέτες δεν είναι συμμετρικές ως προς τον οριζόντιο άξονα των OR αποδεικνύοντας ότι υπάρχει συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης. Ο άξονας των y αναφέρεται στο λογάριθμο του OR, ενώ ο άξονας των x στο τυπικό σφάλμα του OR.



Εικόνα 17: Funnel plot του τεστ του Egger .

Στα γραφήματα τόσο του Begg (εικόνα 16) όσο και του Egger (εικόνα 17), ο κατακόρυφος άξονας αναφέρεται στο logOR (logor_dom) και ο οριζόντιος άξονας στο SE του logOR. Η ύπαρξη του συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης για το επικρατές γονίδιο αποδεικνύεται και από το ίδιο το γράφημα του Begg (εικόνα 16), στο οποίο οι μελέτες δεν βρίσκονται συμμετρικά στην ευθεία του OR. Ωστόσο, σφάλμα δημοσίευσης για το υπολειπόμενο και συνεπικρατές γονίδιο δεν εμφανίστηκε (βλέπε Παράρτημα, σελίδα 83).

Τέλος, για την ολοκλήρωση αυτής της διαδικασίας απομένει ο έλεγχος για το φαινόμενο του «Πρωτέα». Το φαινόμενο αυτό εντοπίζεται με τη διεξαγωγή της αθροιστικής μέτα-ανάλυσης. Η εντολή που κάνει τον έλεγχο είναι η metatrend. Η metatrend εκτελέστηκε και για τις τρεις ομάδες γονοτύπων (βλέπε Πίνακα 3.6). Και οι τρεις εμφάνισαν το φαινόμενο του «Πρωτέα». Επίσης στα διαγράμματα φαίνεται ότι υπάρχει διαχρονική τάση στους εκτιμητές αποδεικνύοντας τη ύπαρξη του φαινομένου (βλέπε Παράρτημα, σελίδα 86).

Πίνακας 3.6: Πίνακας των συνολικών αποτελεσμάτων για το φαινόμενο του Πρωτέα στις τρεις ομάδες γονοτύπων.

Contrast	Studies	Standard error	P-value	95% CI
4G/4G vs 4G/5G&5G/5G	Including studies	0.00657	0.197	-0.02136 0.00441
	Excluding first studies	0.00626	0.000	-0.04144 -0.01692
4G/5G&4G/4G vs 5G/5G	Including studies	0.00498	0.000	0.02699 0.04653
	Excluding first studies	0.00626	0.000	0.02652 0.05107
4G/4G vs 5G/5G	Including studies	0.00128	0.000	0.00693 0.01197
	Excluding first studies	0.00070	0.000	0.00397 0.00671

Ο εντοπισμός της διαχρονικής τάσης σημαίνει ότι η πρώτη μελέτη που πραγματοποιήθηκε είχε θετικά ευρήματα, δηλαδή βρέθηκε ότι υπήρχε συσχέτιση μεταξύ της ασθένειας και του πολυμορφισμού. Ωστόσο, το γεγονός αυτό οδήγησε και άλλους ερευνητές να εξετάσουν τη συγκεκριμένη συσχέτιση αποδεικνύοντας ότι τα ευρήματα της πρώτης μελέτης ήταν λανθασμένα. Στη συνέχεια παρατίθενται τα αποτελέσματα της αθροιστικής μέτα-ανάλυσης για τη σύμπτυξη 4G/4G&4G/5G vs 5G/5G (πίνακας 3.7):

Πίνακας 3.7: Τα αποτελέσματα της αθροιστικής μέτα-ανάλυσης για τη σύμπτυξη 4G/4G&4G/5G vs 5G/5G.
Tests for detecting trends in cumulative meta-analysis

Number of studies: 13					
'First vs. Subsequent' method					

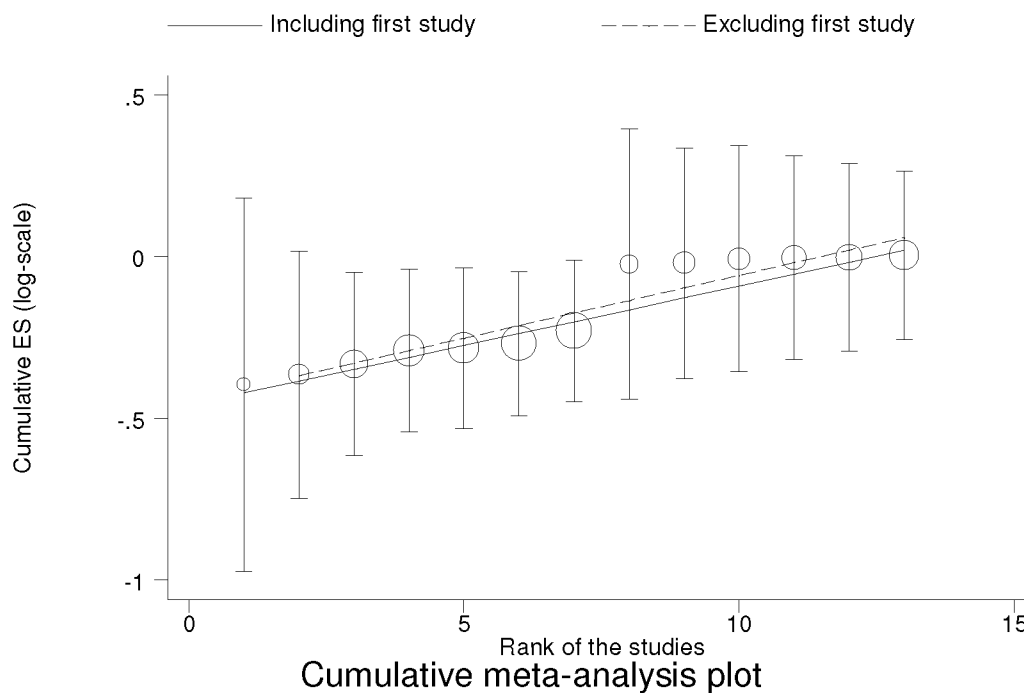
	Effect Size (ES)	P-value	[95% Conf. Interval]		
First study	0.6734	0.179	0.3782	1.1993	
Subsequent studies	1.0409	0.768	0.7974	1.3588	
All Studies	1.0052	0.969	0.7753	1.3032	

Test for the equality of the ESs					

Ho: ES(first) = ES(subsequent)					
z-value = -1.343					
P-value = 0.179					
Generalized Least Squares (GLS) Regression-based test					

	Coef.	Std. Err.	P-value	[95% Conf. Interval]	
rho					
Including all studies	0.03676	0.00498	0.000	0.02699	0.04653
0.476					
Excluding first study	0.03879	0.00626	0.000	0.02652	0.05107
0.488					

Παρατηρώντας τη τιμή του p-value, η οποία είναι μικρότερη από 0.05 (p-value=0.00), διαπιστώνουμε ότι υπάρχει φαινόμενου του «Πρωτέα» διαχρονική τάση στους εκτιμητές (trend) και αυτό ταυτοποιείται από την ύπαρξη της διαχρονικής τάσης στους εκτιμητές (trend) (εικόνα 18).



Εικόνα 18: funnel plot της εντολής metatrend που κάνει αθροιστική μέτα-ανάλυση. Εδώ αναφέρεται στη σύμπτωση 4G/4G&4G/5G vs 5G/5G. Από τη κλίση της ευθείας διαπιστώνεται η ύπαρξη του φαινομένου του Πρωτέα.

3.2.2) Μέτα-ανάλυση στα συνεχή χαρακτηριστικά:

Πέρα από τη μέτα-ανάλυση των διακριτών χαρακτηριστικών, που στη δική μας τη περίπτωση είναι ο διαβήτης, διεξείχθηκε και η μέτα-ανάλυση σε συνεχή χαρακτηριστικά (γλυκόζη και ινσουλίνη). Η ινσουλίνη και η γλυκόζη, όπως προαναφέρθηκε είναι μόρια του αίματος, τα επίπεδα των οποίων είναι δείκτες για την ύπαρξη ή όχι κάποιας ασθένειας. Τα δύο μόρια του αίματος είναι συνεχή δεδομένα και χρειάστηκε να καταχωρήσουμε τη μέση τιμή αλλά και τη διακύμανση του κάθε γονότυπου για την κάθε μελέτη. Κάθε μελέτη που εξετάσαμε ανέφερε τον αριθμό των ασθενών και των μαρτύρων που έχουν τους γονότυπους 4G/4G, 4G/5G και 5G/5G (Πίνακας 3.8).

						4G/4G	4G/4G	4G/4G	4G/5G	4G/5G	4G/5G	5G/5G	5G/5G	5G/5G	no4G/4G	no4G/4G	no4G/4G
AUTHOR	YEAR	COUNTRY	FYLI	TOWN	TYPE	x	sd	n	x	sd	n	x	sd	n	x	sd	n
Lopez-Bermejo A	2007	SPAIN	Caucasians	Barcelona	CAD	4.8	0.4	32							4.8	0.7	90
Kinik ST	2005	TURKEY	Caucasians	Ankara	obesity	4.8	0.4	47	4.8	0.5	22	4.9	0.5	21	4.8	0.5	43
Testa R	2004	ITALY	Caucasians	Florence	diabete	7.46	1.14	24	7.03	1.62	44	7.48	1.65	25	7.19	1.62	69
Kitamura Y	2004	JAPAN	Asians	Nagoya	CAD	5.46	1.21	77	5.31	0.84	61	5.87	1.58	18	5.43	1.04	79
Roncal C	2004	SPAIN	Caucasians	Pamplona	Hypertension& diabetes	6.03	2.2	12	5.9	1.6	24	5.2	0.33	10	5.59	1.36	34
Roncal C	2004	SPAIN	Caucasians	Pamplona	healthy	5.4	0.73	24	5.7	1.5	27	5.26	0.58	25	5.48	1.15	52
Lopes C	2003	UK&France	Caucasians	London&Lille	Obesity	5.5	0.4	24							5.3	0.4	149
Lopes C	2003	UK&France	Caucasians	London&Lille	obesity	5.1	0.5	30							5.12	0.4	111
Jeng JR	2003	TAIWAN	Asians	Taipei,Taiwan	*	6.3	2.69	77	5.75	1.64	173	5.95	1.87	55	5.8	1.69	228
Jeng JR	2003	TAIWAN	Asians	Taipei,Taiwan	*	5.9	1.87	69	5.68	1.5	147	5.43	1.215	44	5.62	2.07	191
Brown NJ	2001	USA	Caucasians	Boston	Es.hypertension	5.4	0.632	10	4.9	0.3	9	5.2	0.34	3	4.975	0.3	12
Brown NJ	2001	USA	Caucasians	Boston	Es.hypertension	5.6	1.732	12	4.8	0.56	31	5.6	1.66	11	5	0.96	42
van Harmelen V	2000	SWEDEN	Caucasians	Stockholm	healthy	5.8	3.42	24	5.9	3.35	45	5.4	3.13	20	5.75	22.03	65
Cesari M	1999	ITALY	Caucasians	Padova	healthy	5.106	0.44	7	5.38	0.86	27	5.106	0.444	16	5.28	0.73	43
Nagi DK	1997	USA	Indians	Arizona	diabetes	10.2	4.6	32	11.4	3.9	89	10	3.9	51	10.9	3.9	140
Rafael Segui	2000	SPAIN	Caucasians	Valencia	CAD	5.1	0.8	40	5.1	1.5	85	4.8	0.6	65	4.97	1.196	150
Estellés A	2001	SPAIN	Caucasians	Valencia	obesity	106.3	66.7	29	105.6	47.2	55	106.3	45.1	18	105.77	46.70	73

Πίνακας 3.8: Μελέτες οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή της μέτα-ανάλυσης για τη συσχέτιση της γλυκόζης (mmol/l) και της ινσουλίνης (pmol/l) με το πολυμορφισμό 4G-5G του γονιδίου PAI-1 (συνεχή χαρακτηριστικά).

Η ένωση των γονοτύπων έγινε με τον ίδιο ακριβώς τρόπο όπως και στον διαβήτη. Δηλαδή υπήρξαν οι ενώσεις 4G/5G+5G/5G και 4G/5G+4G/4G. Μετά-ανάλυση πραγματοποιήθηκε μεταξύ των γονοτύπων: 4G/5G+5G/5G έναντι του 4G/4G, 4G/5G+4G/4G έναντι του 5G/5G. Μεταξύ των αλληλομόρφων 4G και 5G δεν μπορούσε να γίνει μετά-ανάλυση. Επειδή η γλυκόζη και η ινσουλίνη είναι συνεχή δεδομένα, σαν μέγεθος επίδρασης έχουμε τη διαφορά των μέσων τιμών και όχι το OR όπως συνέβαινε με τον διαβήτη. Στη συνέχεια υπολογισθήκαν οι διαφορές των μέσων τιμών, των διακυμάνσεων και του τυπικού σφάλματος, ακολούθησε η μετά-ανάλυση αυτών. Για τη γλυκόζη: Πραγματοποιήθηκε μετά-ανάλυση και για τους δύο γονοτύπους 4G/5G&5G/5G vs 4G/4G (b3) & 5G/5G vs 4G/4G&4G/5G (b4) (πίνακας 3.9), τα συνολικά αποτελέσματα της ετερογένειας σε σχέση με τη φυλή και σε σχέση με την ισορροπία παρουσιάζονται στο Πίνακα 3.10.

Πίνακας 3. 9: Αποτελέσματα της μετά-ανάλυσης των μέσων διαφορών μαζί με το ES και το 95%διάστημα εμπιστοσύνης.

Contrast	Mean difference	95% CI	P-value
4G/5G+5G/5G vs 4G/4G (b3)	0.130	-0.040 0.301	0.135
4G/5G+4G/4G vs 5G/5G (b4)	-0.081	-0.162 -0.001	0.048

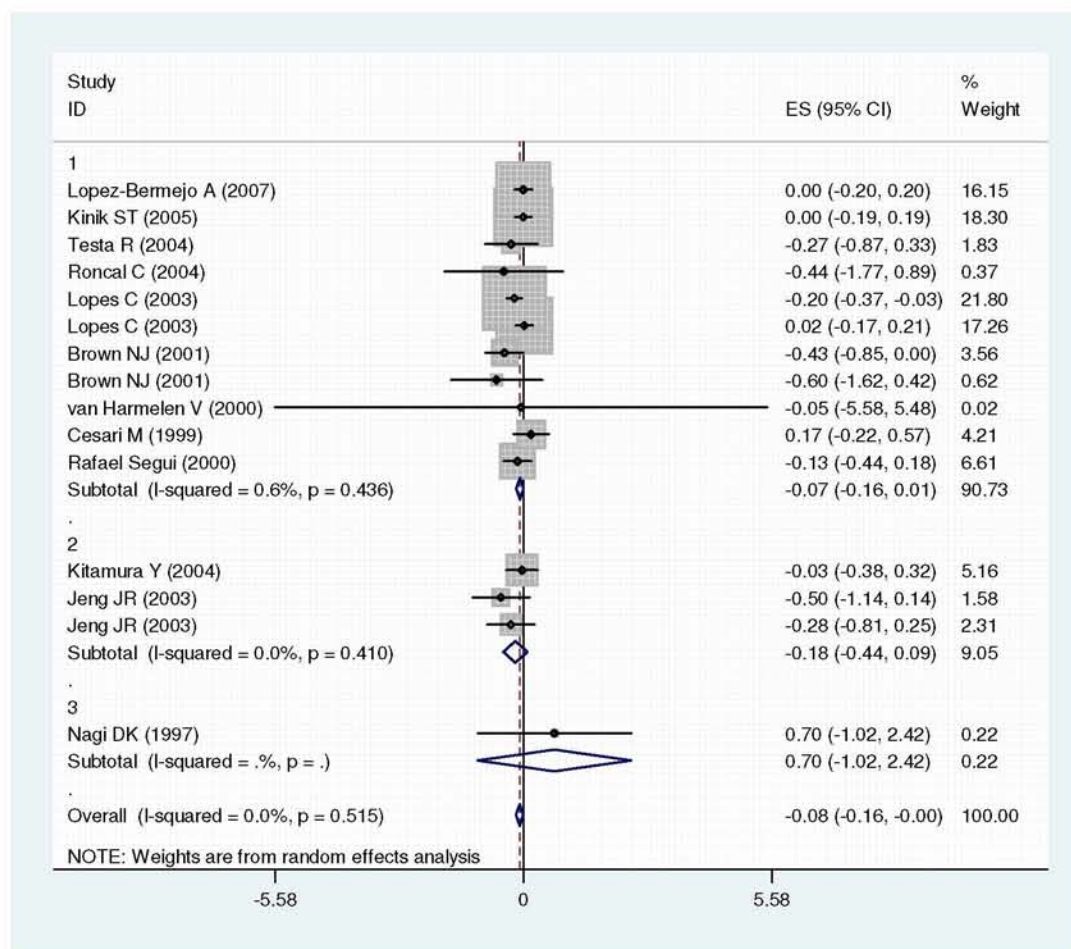
Πίνακας 3.10:Πίνακας των συνολικών αποτελεσμάτων της μετά-ανάλυσης για την ετερογένεια σε σχέση με τη φυλή και σε σχέση με την ισορροπία στους δύο γονότυπους.

Contrast	Sub-Groups	number of studies	Mean Differences (mmol/l)	95% CI	τ^2	Q-Cohran's	I^2	P-value of heterogeneity
4G/5G+4G/4G vs 5G/5G (b4)	All	15	-0.081	-0.162 - 0.001	0.0000	13.15	0.0%	0.515
	Caucasians	11	-0.074	-0.159 0.011	0.0001	10.06	0.6%	0.436
	Asians	3	-0.176	-0.444 0.092	0.0000	1.79	0.0%	0.410
	Hwe Equilibrium	11	-0.118	-0.287 0.051	0.0000	6.56	0.0%	0.585
	Hwe dequilibrium	4	-0.135	-0.410 0.140	0.0068	2.87	30.2%	0.238
4G/5G+5G/5G vs 4G/4G(b3)	All	15	0.130	-0.040 0.301	0.0282	17.75	32.4%	0.123
	Caucasians	11	0.136	-0.055 0.326	0.0257	12.02	33.5%	0.150
	Asians	3	0.017	-0.410 0.444	0.0623	3.54	43.4%	0.171
	Hwe Equilibrium	11	0.135	-0.124 0.394	0.0527	13.32	39.9%	0.101
	Hwe dequilibrium	4	0.100	-0.128 0.329	0.0131	3.94	23.8%	0.268

Τα τεστ για την ετερογένεια σε σχέση με τη φυλή κι σε σχέση με την ισορροπία έδειξαν ομοιογενή δείγματα, $I^2 \leq 0.0\%$ και P-value >0.1 , για το υπολειπόμενο γονίδιο. Για το επικρατές, υπάρχει ετερογένεια σε σχέση με τη φυλή και σε σχέση με

την ισορροπία, μεταξύ των δειγμάτων αλλά δεν είναι μεγάλη, καθώς $I^2 < 50\%$ και το P-value βρίσκεται κοντά στο 0.1.

Για τη σύμπτυξη 5G/5G vs 4G/5G&4G/4G ήταν σημαντικά τα αποτελέσματα καθώς όπως φαίνεται και στο forest plot (εικόνα 19) στο διάστημα εμπιστοσύνης δεν εμπεριέχεται η τιμή 0, άρα υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του υπολειπόμενου γονιδίου με τη γλυκόζη. Αυτό πιστοποιείται και από τη τιμή του p-value που είναι μικρότερη από 0.05 (p-value=0.048). Με άλλα λόγια, η γλυκόζη συσχετίζεται με τα άτομα που φέρουν το γονότυπο 5G/5G (φυσιολογικό). Πιο συγκεκριμένα, τα άτομα που φέρουν το γονότυπο 5G/5G, έχουν αυξημένη γλυκόζη στο αίμα κατά 0.08 mmol/l. Η ίδια διαδικασία πραγματοποιήθηκε και για το b3 (βλέπε Παράρτημα, σελίδα 90), ωστόσο δεν βρέθηκαν σημαντικά αποτελέσματα για την συσχέτισή του με τη γλυκόζη. Τα συνολικά αποτελέσματα και για τις δύο μέσες διαφορές αναρτώνται στο Πίνακα 3.9.



Εικόνα 19: «forest plot» της μέτα-ανάλυσης για το υπολειπόμενο γονίδιο ανά φυλή. Η τιμή 0 δεν εμπεριέχεται στο διάστημα εμπιστοσύνης, ταυτοποιώντας ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του γονιδίου με τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα για το σύνολο του πληθυσμού. Η φυλή δεν εμφάνισε κάποια στατιστική σημαντικότητα, γεγονός που αποδεικνύει ότι ο παράγοντας αυτός δεν επιδρά με το πολυμορφισμό.

Μέτα-ανάλυση πραγματοποιήθηκε ξανά αλλάζοντας κάθε φορά τη μεταβλητή στη παράμετρο by(). Πιο συγκεκριμένα: μέτα-ανάλυση πραγματοποιήθηκε με βάση την υπέρταση και το διαβήτη. Για να πραγματοποιηθούν αυτές οι μέτα-αναλύσεις ορίσαμε δύο μεταβλητές hyper_cat & diab_cat ως εξής:

Για την μεταβλητή hyper_cat:

1. στα άτομα που ήταν υγιείς από υπέρταση θέσαμε τη τιμή ίση με 0,
2. στα άτομα που ήταν ασθενείς από υπέρταση θέσαμε τιμή ίση με 1,
3. και στα άτομα που δεν γνωρίζαμε τη κατάστασή τους, δηλαδή αν ήταν ασθενείς ή υγιείς, θέσαμε τιμή ίση με 2

Για τη μεταβλητή diab_cat:

1. στα άτομα που ήταν υγιείς από διαβήτη ή το ποσοστό σακχαρώδους διαβήτη ήταν μικρότερο από 50% θέσαμε τη τιμή ίση με 0,
2. στα άτομα που ήταν ασθενείς από διαβήτη με ποσοστό 50% και άνω θέσαμε τιμή ίση με 1,
3. και στα άτομα που δεν γνωρίζαμε τη κατάστασή τους, θέσαμε τιμή ίση με 2.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν μετά από τις παραπάνω ενέργειες παρουσιάζονται συγκεντρωτικά στο Πίνακα 3.11 και στο Πίνακα 3.12.

Στο Πίνακα 3.11 αναρτώνται τα αποτελέσματα της μέτα-ανάλυσης με βάση τη τιμή της μεταβλητής hyper_cat. Παρατηρούμε ότι στο υπολειπόμενο γονίδιο για τη κατηγορία που δεν γνωρίζουμε αν ο πληθυσμός είναι υγιής ή ασθενής αλλά και για το σύνολό τους, υπάρχει συσχέτιση του 5G με τη γλυκόζη. Με άλλα λόγια όσα άτομα φέρουν το υπολειπόμενο γονίδιο συσχετίζονται με τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα ανεξάρτητα από το αν είναι υπεртаσικοί ή όχι. Για το επικρατές γονίδιο, το γεγονός ότι η τιμή του p-value είναι μικρότερη από 5% δεν σημαίνει ότι υπάρχει συσχέτιση του 4G με τη γλυκόζη καθώς στο 95% διάστημα εμπιστοσύνης περιέχεται η τιμή 0. Επομένως δεν μπορούμε να υποστηρίξουμε τη συσχέτιση αυτή.

Πίνακας 3.11: Πίνακας με τα συνολικά αποτελέσματα της μέτα-ανάλυσης για την ετερογένεια σε σχέση με μεταβλητή Hyper_cat.

Mean difference	Hyper_cat	Mean difference (mmol/l)	95% CI	τ^2	Q-Cohran's	I ²	P-value of heterogeneity	P-value
b4(4G/4G&4G/5G vs 5G/5G)	0	0.173	-0.218 0.564	0.0000	0.01	0.0%	0.937	0.386
	1	-0.440	-1.766 0.886	0.0000	0.00			0.515
	2	-0.092	-0.176 -0.008	0.0004	11.18	1.6%	0.428	0.032
	Overall	-0.081	-0.162 -0.001	0.0000	13.15	0.0%	0.515	0.048
b3(4G/4Gvs 5G/5G&4G/5G)	0	0.248	-0.015 0.510	0.0%	0.09		0.957	0.064
	1	0.740	0.114 1.366	0.0000	0.00			0.020
	2	0.036	-0.176 0.247	0.0344	12.66	36.8%	0.124	0.742
	Overall	0.130	-0.040 0.301	0.0282	17.75	32.4%	0.123	0.135

Στο Πίνακα 3.12, παρουσιάζονται τα συνολικά αποτελέσματα που προέκυψαν από τη μέτα-ανάλυση με βάση τη τιμή της μεταβλητής diab_cat. Στο υπολειπόμενο γονίδιο παρατηρούμε ότι υπάρχει συσχέτιση του αλληλομόρφου 5G με τη γλυκόζη ανεξάρτητα από το αν είναι διαβητικός ή όχι ο πληθυσμός. Αυτό αποδεικνύεται και από το διάστημα εμπιστοσύνης στο οποίο δεν περιέχεται η τιμή 0. Στο επικρατές γονίδιο, το p-value είναι μικρότερο από 5% και το διάστημα εμπιστοσύνης περιέχει τη τιμή 0. Επομένως δεν μπορούμε να ισχυριστούμε ότι υπάρχει συσχέτιση του αλληλομόρφου 4G με τη γλυκόζη στα άτομα που είναι διαβητικοί.

Πίνακας 3.12: Πίνακας με τα συνολικά αποτελέσματα της μέτα-ανάλυσης για την ετερογένεια σε σχέση με μεταβλητή Diab_cat.

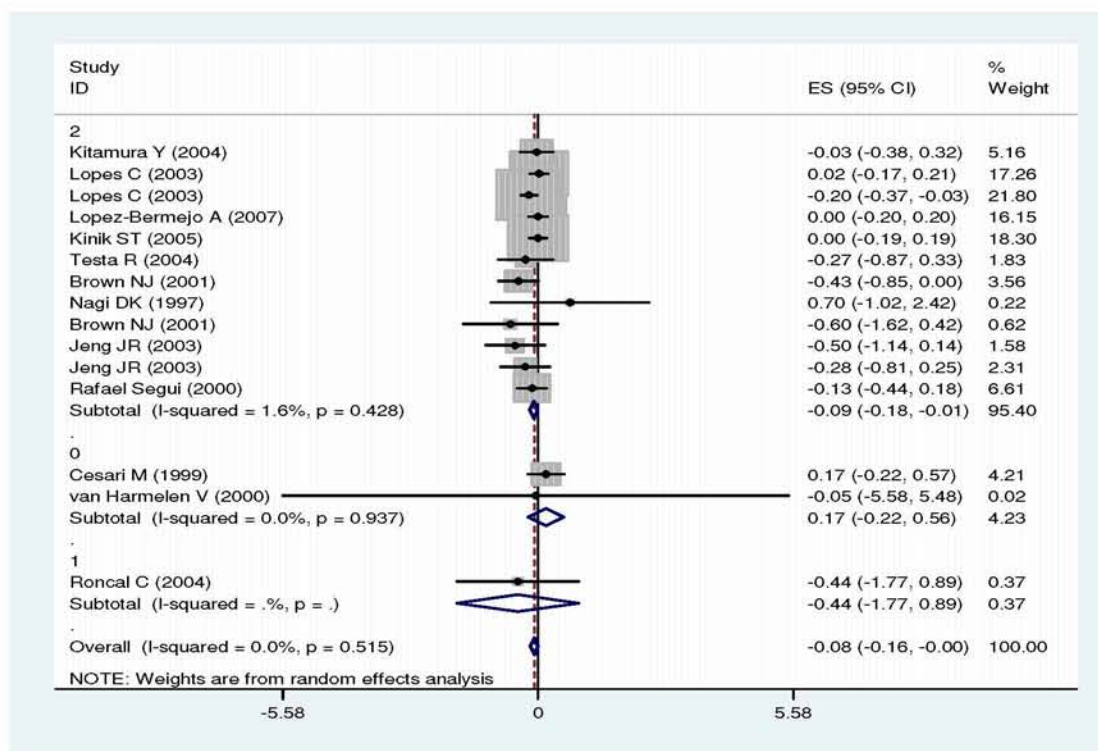
Mean difference	Diab_cat	Mean difference (mmol/l)	95% CI	τ^2	Q-Cohran's	I ²	P-value of heterogeneity	P-value
b4(4G/4G&4G/5G vs 5G/5G)	0	-0.067	-0.217 0.084	0.0051	4.78	16.3%	0.311	0.385
	1	-0.134	-0.794 0.525	0.0394	1.09	8.4%	0.296	0.690
	2	-0.083	-0.195 0.029	0.0008	7.19	2.6%	0.410	0.147
	Overall	-0.081	-0.162 -0.001	0.0000	13.15	0.0%	0.515	0.048
b3(4G/4Gvs 5G/5G&4G/5G)	0	0.321	0.079 0.563	0.0000	2.11	0.0%	0.549	0.009
	1	0.283	-1.053 1.619	0.6638	3.30	69.7%	0.069	0.678
	2	0.038	-0.172 0.248	0.0269	9.35	35.8%	0.155	0.723
	Overall	0.130	-0.040 0.301	0.0282	17.75	32.4%	0.123	0.135

Για να γίνει πιο αντιληπτή η μέτα-ανάλυση, παρουσιάζονται τα αποτελέσματά της για το υπολειπόμενο γονίδιο (για το επικρατές, βλέπε Παράρτημα, σελίδα 97).

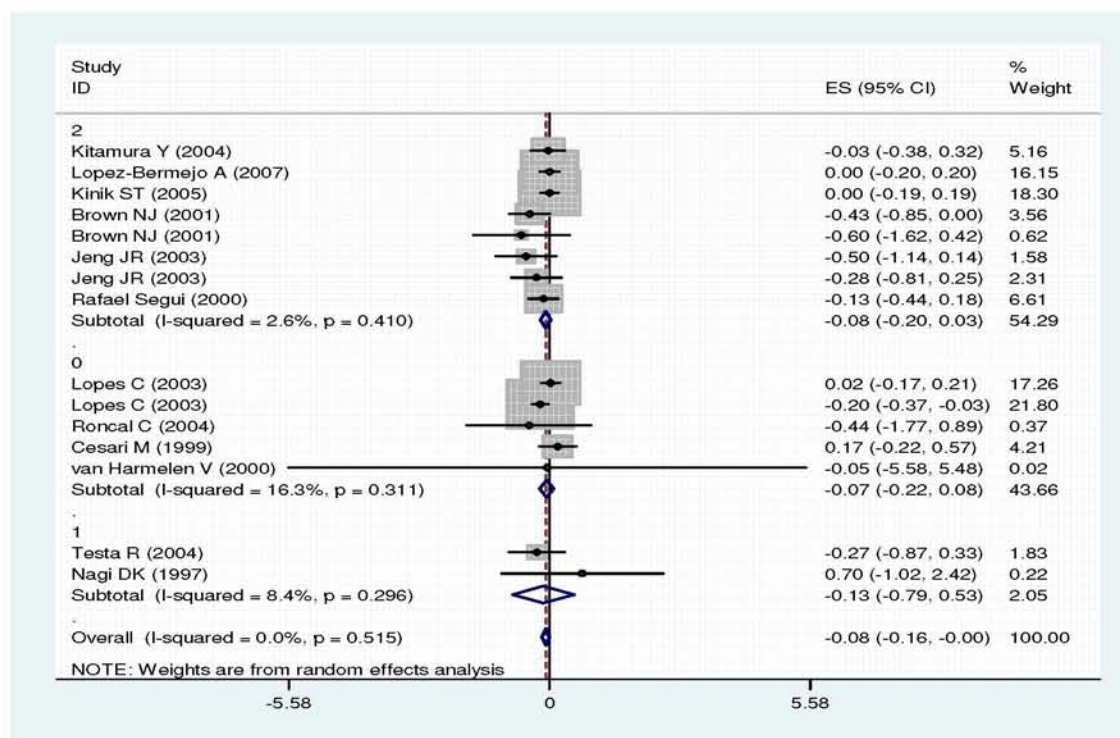
Στην εικόνα 20, παρατηρώντας το διάστημα εμπιστοσύνης, διαπιστώνεται η ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ του 5G με τη γλυκόζη στο πληθυσμό που δεν γνωρίζουμε ότι πάσχουν ή όχι από υπέρταση αλλά και στο σύνολο όλων των πληθυσμών. Για την εικόνα 21, ελέγχοντας το διάστημα εμπιστοσύνης παρατηρούμε ότι για το σύνολο όλων των πληθυσμών δεν περιέχεται η τιμή 0, αποδεικνύοντας τη συσχέτιση του 5G με τη γλυκόζη. Δηλαδή τα άτομα που είναι διαβητικοί ή μη και φέρουν το αλληλόμορφο 5G συσχετίζονται με τη γλυκόζη.

Στη συνέχεια, ακολούθησε ο έλεγχος των μελετών για το συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης και το φαινόμενο του Πρωτέα. Στο Πίνακα 3.14, παρουσιάζονται τα συνολικά αποτελέσματα για το συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης. Όπως είναι φανερό από τις τιμές των p-value και των δύο τεστ, δεν υπάρχει συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης για κανένα από τους δύο γονοτύπους.

Στην εικόνα 22 παρουσιάζεται το διάγραμμα του Begg στο οποίο οι μελέτες εμφανίζονται κατανομημένες συμμετρικά ως προς την οριζόντια γραμμή που αντιπροσωπεύει το OR. Αυτό ταυτοποιεί το γεγονός ότι δεν υπάρχει συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης για το επικρατές γονίδιο (για το υπολειπόμενο, βλέπε Παράρτημα, σελίδα 100). Στην εικόνα 23, παρουσιάζεται το διάγραμμα του Egger. Στη συνέχεια παρατίθενται τα αποτελέσματα για το επικρατές γονίδιο για τον έλεγχο του συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης (πίνακας 3.13).



Εικόνα 20: «forest plot» της μετά-ανάλυσης για το υπολειπόμενο γονίδιο ανά κατηγορία υπερτασικών. Παρατηρούμε ότι στη κατηγορία που δεν γνωρίζουμε αν ο πληθυσμός είναι ή δεν είναι υπερτασικός αλλά και στο σύνολό τους στο διάστημα εμπιστοσύνης δεν περιέχεται η τιμή 0, ταυτοποιώντας την ύπαρξη συσχέτισης.



Εικόνα 21: «forest plot» της μετά-ανάλυσης για το υπολειπόμενο γονίδιο ανά κατηγορία διαβητικών. Στο σύνολο όλων των πληθυσμών, το διάστημα εμπιστοσύνης δεν περιέχει τη τιμή 0, αποδεικνύοντας τη συσχέτιση του αλληλομόρφου 5G με τη γλυκόζη.

Πίνακας 3.13: Αποτελέσματα για το επικρατές γονίδιο για το σφάλμα δημοσίευσης.

Tests for Publication Bias

Begg's Test

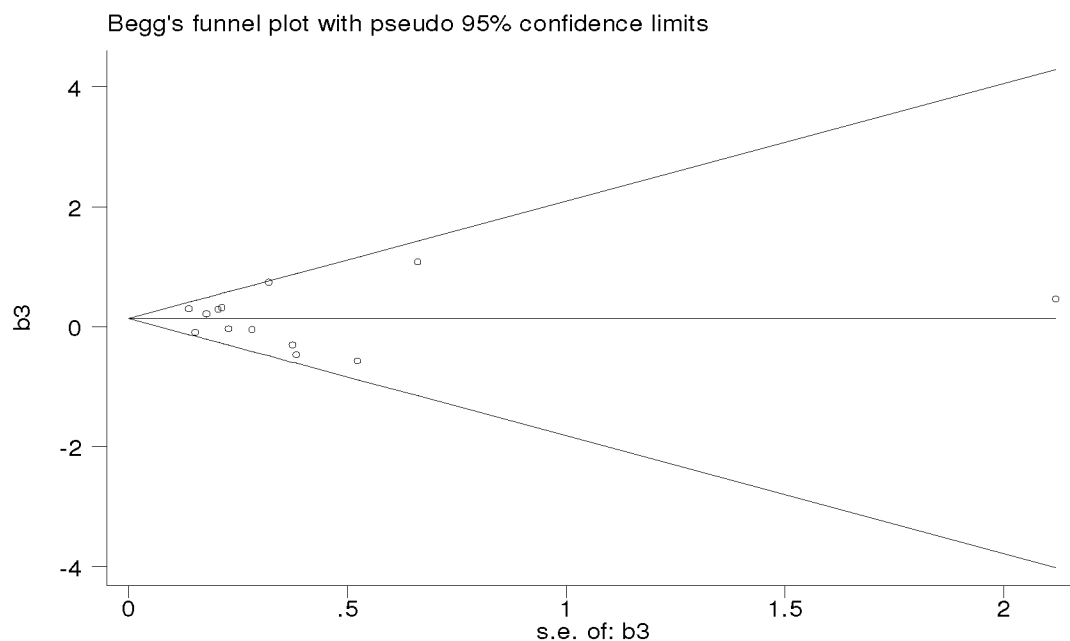
adj. Kendall's Score (P-Q) = -6
 Std. Dev. of Score = 16.39
 Number of Studies = 13
 z = -0.37
 Pr > |z| = 0.714
 z = 0.31 (continuity corrected)
 Pr > |z| = 0.760 (continuity corrected)

Egger's test

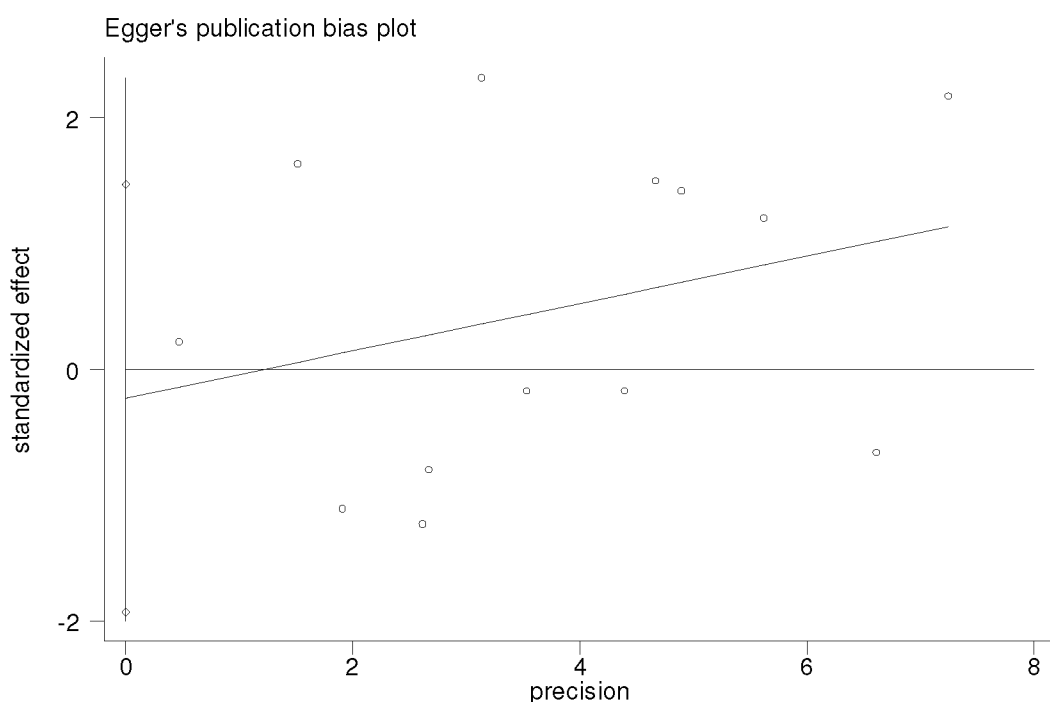
	Std_Eff	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
slope		.1880645	.1817263	1.03	0.323	-.2119123
bias		-.227726	.7733191	-0.29	0.774	-1.92979

Πίνακας 3.14: Πίνακας με τα συνολικά αποτελέσματα για το συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης και στους δύο γονοτύπους.

Contrast	P-value of test Begg	P-value of test Egger	95% CI
4G/4G vs 4G/5G&5G/5G(b3)	0.586	0.297	-1.436637 .4753804
4G/5G&4G/4G vs 5G/5G (b4)	0.714	0.774	-1.92979 1.474338



Εικόνα 22: Το διάγραμμα του begg για το επικρατές γονίδιο. Όπως φαίνεται και από αυτό, δεν υπάρχει συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης καθώς οι μελέτες (παρουσιάζονται με τη μορφή σημείων) είναι κατανομημένες συμμετρικά ως προς το OR.

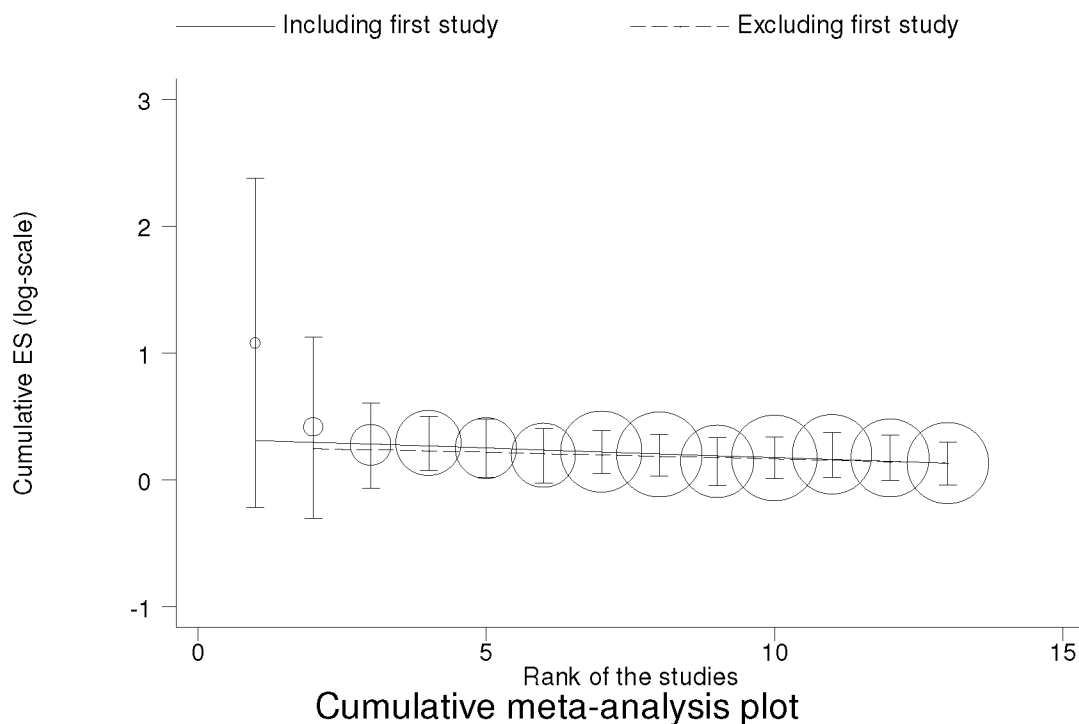


Εικόνα 23: Διάγραμμα του Egger για το συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης στο επικρατές γονίδιο.

Ακολουθώντας, εμφανίζονται τα αποτελέσματα για το φαινόμενο του Πρωτέα. Στο πίνακα 3.15, παρουσιάζονται τα συνολικά αποτελέσματα για τον έλεγχο του φαινομένου του Πρωτέα, όπως προέκυψαν από τις εντολές. Στο επικρατές γονίδιο, η τιμή του p-value είναι στατιστικώς σημαντική, καθώς είναι 0 ή περίπου 0 (βλέπε πίνακα 3.16). Το γεγονός αυτό αποδεικνύει ότι υπάρχει φαινόμενο του Πρωτέα που σημαίνει ότι οι μελέτες παρουσιάζουν διαχρονική τάση (trend) (βλέπε εικόνα 24).

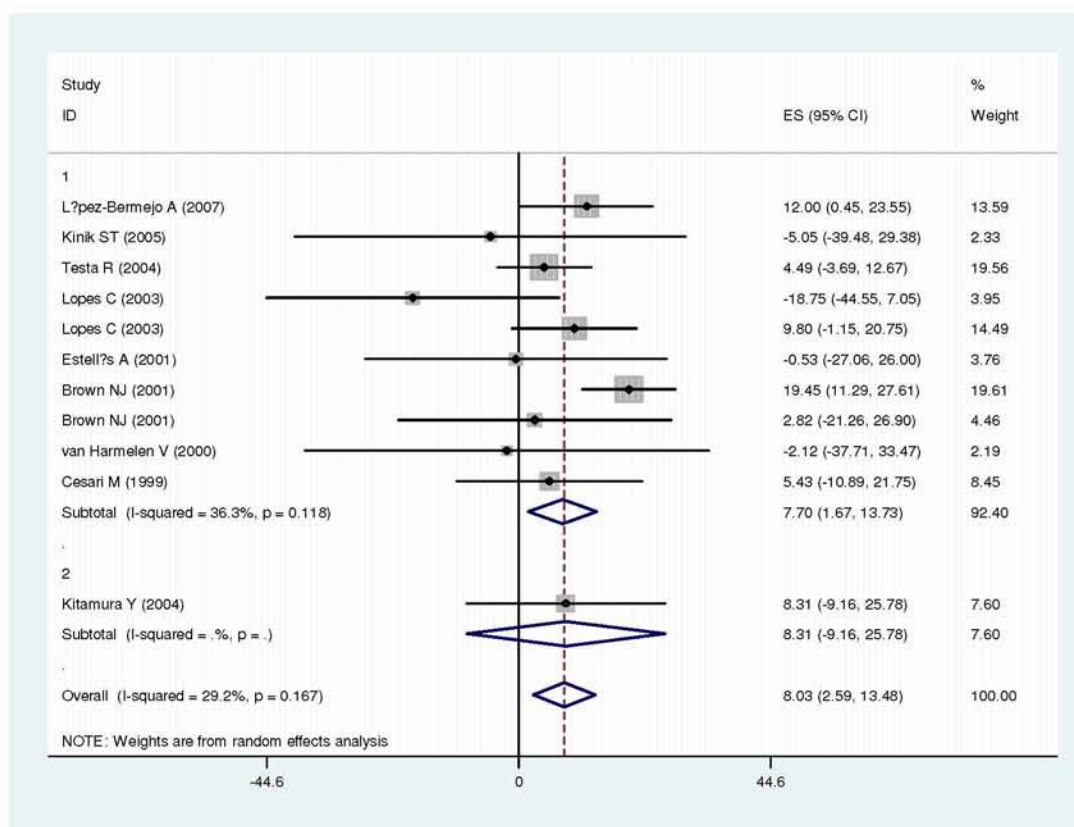
Πίνακας 3.15: Πίνακας με τα συνολικά αποτελέσματα των δύο γονοτύπων για τον έλεγχο της ύπαρξης του φαινομένου του Πρωτέα.

Contrast	Studies	β	P-value	Coefficient	95% CI
4G/4G vs 4G/5G&5G/5G(b3)	Including studies	0.00476	0.002	-0.01497	-0.02430 -0.00563
	Excluding first study	0.00220	0.000	-0.01022	-0.01453 -0.00591
4G/5G&4G/4G vs 5G/5G (b4)	Including studies	0.00546	0.673	0.00231	-0.00840 0.01302
	Excluding first study	0.00515	0.683	0.00210	-0.00799 0.01220



Εικόνα 24: funnel plot της αθροιστικής μετά-ανάλυσης του επικρατές γονιδίου για το φαινόμενο του Προτέα. Όπως είναι φανερό υπάρχει διαχρονική τάση στους εκτιμητές άρα και ύπαρξη του φαινομένου του Προτέα.

Για την ινσουλίνη: Πραγματοποιήθηκε μετά-ανάλυση και για τους δύο γονοτύπους b3 & b4. Η ένωση των γονοτύπων έγινε με τον ίδιο ακριβώς τρόπο όπως στον διαβήτη και τη γλυκόζη. Δηλαδή υπήρξαν οι ενώσεις 4G/5G+5G/5G και 4G/5G+4G/4G. Μετά-ανάλυση πραγματοποιήθηκε μεταξύ των γονοτύπων: 4G/5G+5G/5G έναντι του 4G/4G και 4G/5G+4G/4G έναντι του 5G/5G. Μεταξύ των αλληλομόρφων 4G και 5G δεν μπορούσε να γίνει μετά-ανάλυση, όπως και στη γλυκόζη. Και σε αυτή την περίπτωση το αλληλόμορφο γονίδιο που προκαλεί την ασθένεια είναι το 4G και το φυσιολογικό το 5G. Αφού και η ινσουλίνη είναι συνεχές δεδομένο, σαν μέγεθος επίδρασης έχουμε τη διαφορά των μέσων τιμών και όχι το OR όπως συνέβαινε με τον διαβήτη. Αφού υπολογισθήκαν οι διαφορές των μέσων τιμών, των διακυμάνσεων και του τυπικού σφάλματος ακολούθησε η μετά-ανάλυση αυτών. Όπως φαίνεται από το παρακάτω forest plot υπάρχει συσχέτιση της ινσουλίνης με το γονότυπο 5G/5G και αυτό το συμπεραίνουμε από το γεγονός ότι στο διάστημα εμπιστοσύνης δεν συμπεριλαμβάνεται η τιμή 0 (βλέπε εικόνα 25). Στη μετά-ανάλυση που πραγματοποιήθηκε μεταξύ του 4G/5G+5G/5G έναντι του 4G/4G δεν είχαμε κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα. Τα συνολικά αποτελέσματα για τον έλεγχο της ετερογένειας σε σχέση με τη φυλή και σε σχέση με την ισορροπία παρουσιάζονται στο ακόλουθο πίνακα (πίνακας 3.16). Παρατηρώντας το πίνακα διαπιστώνουμε ότι δεν υπάρχει ετερογένεια για το επικρατές, δηλαδή τα δείγματα είναι ομογενή. Αυτό ταυτοποιείται από το ποσοστό του I^2 που είναι 0% και από τη τιμή του p-value που είναι μεγαλύτερη από 0.1. Ενώ για το υπολειπόμενο γονίδιο, υπάρχει ετερογένεια αλλά σε μικρό ποσοστό ($I^2 < 50\%$ και p-value > 0.1). Τα ίδια αποτελέσματα για τον έλεγχο της ετερογένειας παρατηρήθηκαν και για την ισορροπία hwe. Κατά τον έλεγχο της ισορροπίας Hardy-Weinberg βρέθηκαν εννέα μελέτες που ήταν σε ισορροπία και δύο μελέτες που δεν ήταν σε ισορροπία.



Εικόνα 25: Αποτέλεσμα μέτα-ανάλυσης της συσχέτισης των γονοτύπων 4G/5G+4G/4G έναντι του 5G/5G με τα επίπεδα της ινσουλίνης στο αίμα.

Πίνακας 3.16: Πίνακας των συνολικών αποτελεσμάτων της μέτα-ανάλυσης για την ετερογένεια σε σχέση με τη φυλή και σε σχέση με την ισορροπία στους δύο γονότυπους.

Contrast	Sub-Groups	number of studies	Mean Differences (pmol/l)	95% CI	τ^2	Q-Cohran's	I^2	P-value of heterogeneity
4G/5G+4G/4G vs 5G/5G (b4)	All	11	8.035	2.590 13.479	22.0242	14.13	29.2%	0.167
	Caucasians	8	7.698	1.670 13.726	29.5187	14.12	36.3%	0.118
	Asians	1	8.310	-9.161 25.781	0.0000	0.00		
	Hwe Equilibrium	9	8.854	2.049 15.658	23.4055	8.63	0.0%	0.196
	Hwe dequilibrium	2	8.435	-2.003 18.873	0.0000	0.65	30.5%	0.420
4G/5G+5G5G vs 4G/4G(b3)	All	11	1.037	-4.980 7.055	0.0000	6.04	0.0%	0.536
	Caucasians	6	1.544	-4.518 7.605	0.0000	4.16	0.0%	0.654
	Asians	1	-33.800	-84.077 16.477	0.0000	0.00		
	Hwe Equilibrium	9	0.695	-5.414 6.804	0.0000	5.63	0.0%	0.466
	Hwe dequilibrium	2	12.240	-22.689 47.169	0.0000	0.00		

Όπως και στη γλυκόζη, έτσι και στην ινσουλίνη πραγματοποιήθηκαν μετα-αναλύσεις με βάση τις κατηγορίες hyper_cat & diab_cat (βλέπε αποτελέσματα γλυκόζης). Ωστόσο τα αποτελέσματα δεν ήταν στατιστικά σημαντικά για τις κατηγορίες που έπασχαν από διαβήτη ή υπέρταση. Για την κατηγορία των ατόμων που η ύπαρξη ασθένειας ή όχι, δεν ήταν ξεκάθαρη, αλλά και για το σύνολο όλων των πληθυσμών τα αποτελέσματα ήταν στατιστικά σημαντικά (βλέπε Παράρτημα).

Πίνακας 3.17: Συνολικά αποτελέσματα των τεστ των Begg και Egger και για τις δύο συμπτώξεις.

Contrast	P-value of test Begg	P-value of test Egger	95% CI
4G/4G vs 4G/5G&5G/5G(b3)	0.458	0.360	-.6441836 .6498434
4G/5G&4G/4G vs 5G/5G (b4)	0.052	0.042	-1.528996 .6459564

Πίνακας 3.18: Αποτελέσματα για τη γκρίζα και ξενόγλωσση βιβλιογραφία.

Tests for Publication Bias

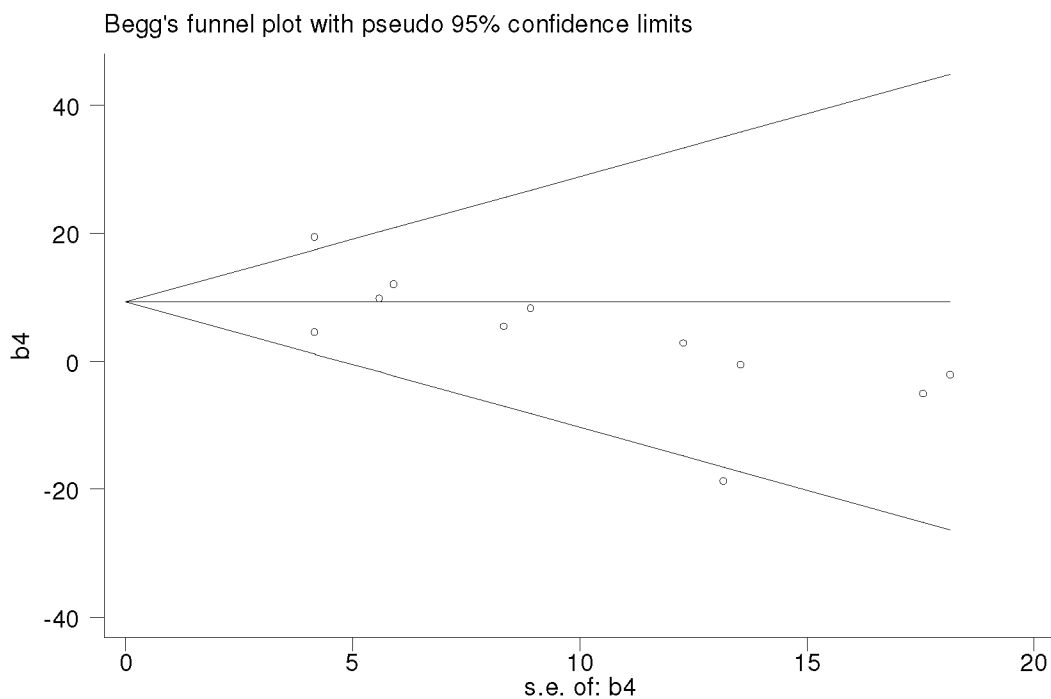
Begg's Test

adj. Kendall's Score (P-Q) = -25
 Std. Dev. of Score = 12.85
 Number of Studies = 11
 z = -1.95
 Pr > |z| = 0.052
 z = 1.87 (continuity corrected)
 Pr > |z| = 0.062 (continuity corrected)

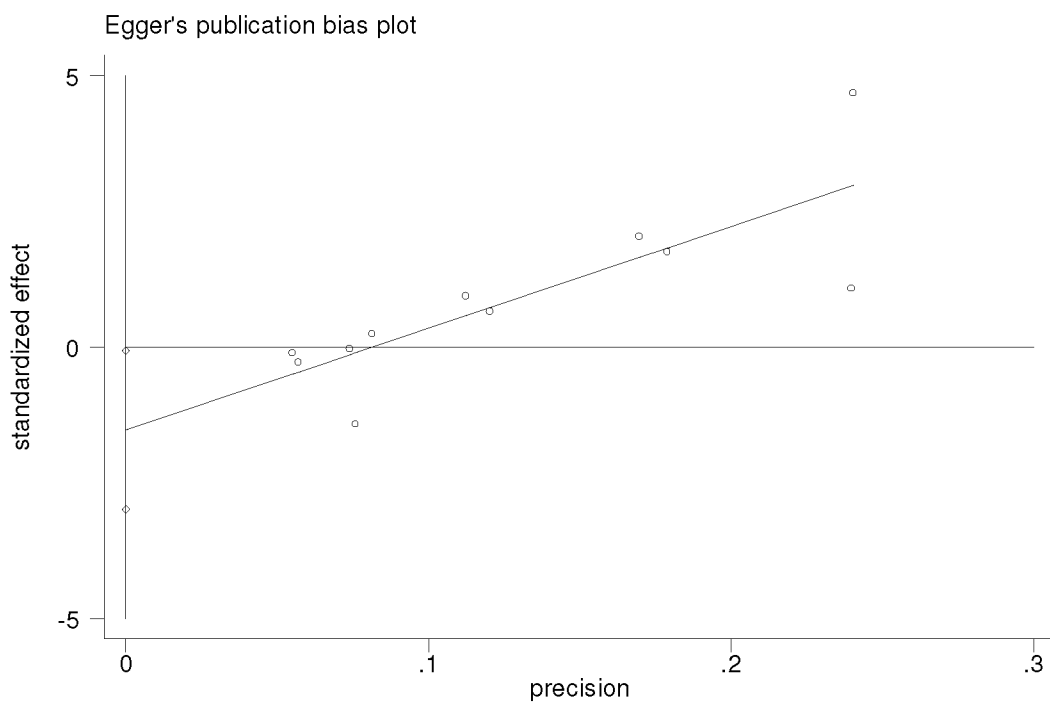
Egger's test

Std_Eff	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
slope	18.73509	4.495956	4.17	0.002	8.564526
bias	-1.528996	.6459564	-2.37	0.042	-2.99025 - .0677407

Στο παραπάνω πίνακα (πίνακα 3.18) αναρτώνται τα συνολικά αποτελέσματα από τα τεστ των Begg και Egger και για τις δύο συμπτώξεις. Όπως φαίνεται και από το πίνακα 3.18, τα αποτελέσματα για το υπολειπόμενο γονίδιο για τη ξενόγλωσση και τη γκρίζα βιβλιογραφία φανερώνουν την ύπαρξή τους. Αυτό είναι εμφανές και από την εικόνα 26 (γράφημα του Begg) όπου οι μελέτες δεν είναι συμμετρικά κατανομημένες



Εικόνα 26: Γράφημα του Begg για το υπολειπόμενο γονίδιο.



Εικόνα 27: Γράφημα του Egger για το υπολειπόμενο γονίδιο.

Ακολούθως, εμφανίζονται τα αποτελέσματα για το φαινόμενο του Πρωτέα. Στο πίνακα 3.19, παρουσιάζονται τα συνολικά αποτελέσματα για τον έλεγχο του φαινομένου του Πρωτέα, όπως προέκυψαν από τις εντολές. Όπως είναι εμφανές, τα αποτελέσματα και για τα δύο γονίδια ήταν αρνητικά για το φαινόμενο του Πρωτέα.

Πίνακας 3.19:Συνολικά αποτελέσματα για το φαινόμενο του Πρωτέα και για τις δύο συμπτώσεις.

Contrast	Studies	β	P-value	Coefficient	95% CI
4G/4G vs 4G/5G&5G/5G(b3)	Including studies	0.18036	0.006	-0.49702	-0.85052 -0.14353
	Excluding first study	0.45583	0.460	-0.33653	-1.22996 0.55690
4G/5G&4G/4G vs 5G/5G (b4)	Including studies	0.27031	0.730	-0.09339	-0.62320 0.43642
	Excluding first study	0.34551	0.247	-0.39979	-1.07700 0.27742

Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για το επικρατές γονίδιο (b3) για το φαινόμενο του Πρωτέα.

Πίνακας 3.20: Αποτελέσματα για το φαινόμενο του Πρωτέα στο επικρατές γονίδιο.

Tests for detecting trends in cumulative meta-analysis

Number of studies: 8

'First vs. Subsequent' method

	Effect Size (ES)	P-value	[95% Conf. Interval]
First study	42.5211	0.645	0.0000 3.6e+08
Subsequent studies	1.7977	0.860	0.0027 1.2e+03
All Studies	2.8216	0.735	0.0069 1.2e+03

Test for the equality of the ESs

Ho: ES(first) = ES(subsequent)

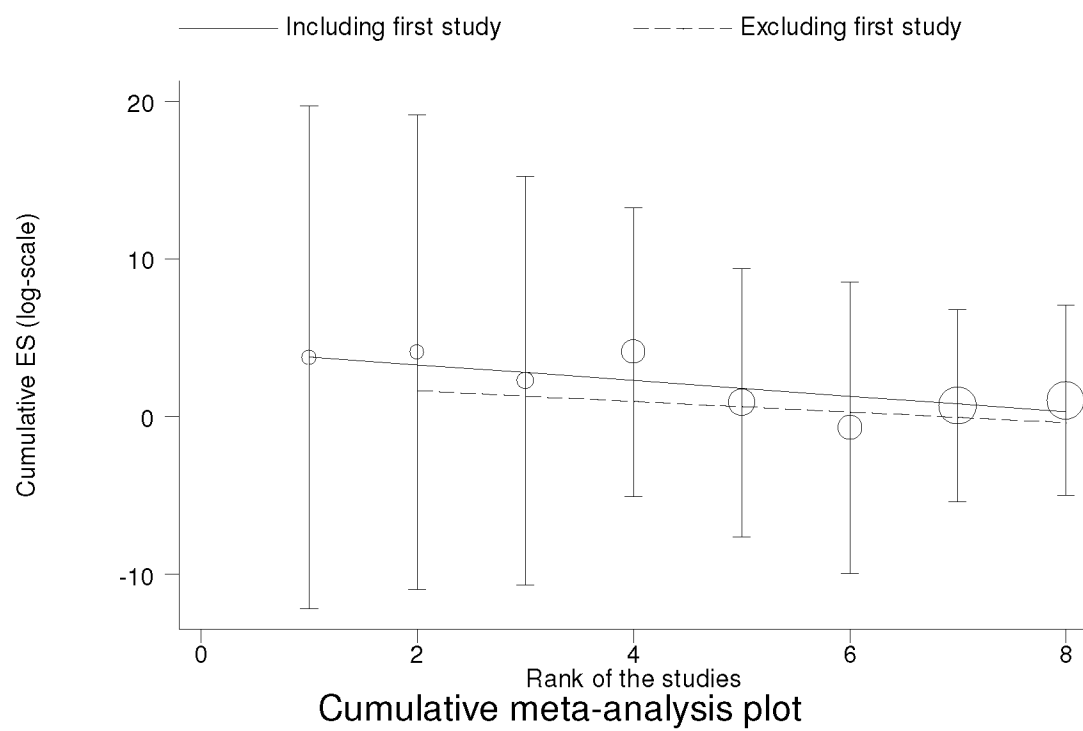
z-value = 0.360

P-value = 0.719

Generalized Least Squares (GLS) Regression-based test

	Coef.	Std. Err.	P-value	[95% Conf. Interval]
rho				
Including all studies	-0.49702	0.18036	0.006	-0.85052 -0.14353
-0.046				
Excluding first study	-0.33653	0.45583	0.460	-1.22996 0.55690
-0.086				

Για το επικρατές γονίδιο, τα αποτελέσματα για το φαινόμενο του Πρωτέα είναι αρνητικά (βλέπε εικόνα 28).



Εικόνα 28: 'plot' της αθροιστικής μέτα-ανάλυσης για το φαινόμενο του Πρωτέα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ένας από τους λόγους της αύξησης της θνησιμότητας σε παγκόσμιο επίπεδο είναι η αύξηση της συχνότητας εμφάνισης του σακχαρώδη διαβήτη. Ο διαβήτης είναι μία μεταβολική ασθένεια η οποία οφείλεται είτε στην ελαττωμένη έκκριση της ινσουλίνης είτε στη μειωμένη ευαισθησία των κυττάρων του σώματος σε αυτήν. Η φύση της πάθησης είναι τέτοια που δεν επιτρέπει την πλήρη θεραπεία της, αλλά τη βελτίωση μόνο των συμπτωμάτων που προκαλεί. Η παρούσα πτυχιακή εργασία εξέτασε τη συσχέτιση του γονιδίου PAI-1 με το διαβήτη, τη γλυκόζη και την ινσουλίνη χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της μετα-ανάλυσης. Το PAI-1 είναι ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου και επομένως της ινωδόλυσης.

Τα αποτελέσματα της μέτα-ανάλυσης που αναφέρονταν στο διαβήτη δε κατάφεραν να δώσουν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με το γονίδιο. Ωστόσο τα αποτελέσματα για τη γλυκόζη και την ινσουλίνη βρήκαν την ύπαρξη συσχέτισης του 5G/5G γονότυπου και με τα επίπεδα της γλυκόζης και με της ινσουλίνης στο αίμα. Πιο συγκεκριμένα, για τη συσχέτιση της γλυκόζης, τα άτομα που φέρουν το γονότυπο 5G/5G είχαν αυξημένα επίπεδα γλυκόζης 0,081 mmol/l περισσότερο. Αυτή η αυξημένη τιμή της δεν διαφέρει πολύ από τις φυσιολογικές τιμές (3,9mmol/l - 6,4mmol/l) της γλυκόζης και επομένως τα άτομα που είτε φέρουν είτε δεν φέρουν το συγκεκριμένο γονότυπο δεν έχουν σημαντική διαφορά τιμών. Στη συσχέτιση της ινσουλίνης, τα άτομα που φέρουν το 5G/5G γονότυπο, είχαν αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης κατά 8,03 pmol/l. Αυτή η αυξημένη τιμή της διαφέρει πολύ από τις φυσιολογικές τιμές (42pmol/l – 168pmol/l) της ινσουλίνης με αποτέλεσμα τα άτομα που φέρουν το συγκεκριμένο γονότυπο να έχουν σημαντική διαφορά τιμών από αυτή που δεν τον φέρουν.

Κατά τον έλεγχο του συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης για το διαβήτη βρέθηκε μόνο για τη σύμπτυξη 4G/4G vs 4G/5G&5G/5G ενώ για τις υπόλοιπες όχι. Ο έλεγχος του φαινομένου του Πρωτέα μας έδειξε ότι υπάρχει φαινόμενο του Πρωτέα και για τις τρεις συμπτύξεις γονότυπων. Η ύπαρξη του φαινομένου, μας δείχνει ότι κάποτε κάποιος ερευνητής είχε αποδείξει την ύπαρξη της συσχέτισης του γονιδίου με την ασθένεια, γεγονός που οδήγησε και άλλους ερευνητές να ασχοληθούν με τη διερεύνηση αυτή με αντίθετα, όμως αποτελέσματα από τη πρώτη. Με τη χρήση της εντολής metatrend πραγματοποιήσαμε αθροιστική μετα-ανάλυση για να παρατηρήσουμε αν υπάρχει διαχρονική τάση στους εκτιμητές.

Για τη γλυκόζη δεν εντοπίστηκε σφάλμα δημοσίευσης σε καμία από τις συμπτύξεις, ενώ εντοπίστηκε φαινόμενο του Πρωτέα για τη σύμπτυξη 4G/4G vs 4G/5G&5G/5G. Αφού δεν υπήρξε συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης σε καμία σύμπτυξη μπορούμε να αποδεχθούμε τα αποτελέσματα της συσχέτισης της γλυκόζης με το γονότυπο 5G/5G. Για την ινσουλίνη βρέθηκε σφάλμα δημοσίευσης για τη σύμπτυξη 5G/5G vs 4G/4G&4G/5G ενώ δεν εντοπίστηκε φαινόμενο του Πρωτέα σε καμία σύμπτυξη.

Για την πλήρη αποδοχή των παραπάνω αποτελεσμάτων που αφορούν τις συσχετίσεις της γλυκόζης και της ινσουλίνης με το πολυμορφισμό, θα ήταν καλό να πραγματοποιηθούν και άλλες μελέτες με ακριβώς ίδιο αντικείμενο έρευνας για να επιβεβαιώσουν ή να διαψεύσουν αυτά τα αποτελέσματα. Ωστόσο, όσον αφορά τη συσχέτιση του διαβήτη με το πολυμορφισμό, τα αποτελέσματα είναι αποδεκτά.

Λαμβάνοντας υπόψη το μέγεθος επίδρασης του διαβήτη σε παγκόσμια κλίμακα, η ασθένεια αυτή θα πρέπει να δραστηριοποιήσει όλους μας ανεξαρτήτου ηλικίας, φύλου και φυλής. Καθώς η ιατρική τεχνολογία βελτιώνεται και αυτοματοποιείται, υπάρχουν πολλές ελπίδες για τη πλήρη αντιμετώπιση της ασθένειας αυτής στο κοντινό μέλλον ή τουλάχιστον το μερικό περιορισμό των συμπτωμάτων της.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Willis, T., “*The urine of diabetics is wonderfully sweet as if imbued with honey or sugar.*”
2. el.wikipedia.org/wiki/Διαβήτης, Διαβήτης. 2009.
3. <http://www.who.int/diabetes/en/>, diabetes programme. WHO, 2009.
4. www.hygeia.gr, Εγκυκλοπαίδεια υγείας 2009.
5. SNPs.
6. James L. Holly, M., *Cardiometabolic Risk Syndrome Part V: Fibrinolytic Dysfunction*. Your Life Your Health The Examiner, January 11, 2007.
7. Juhan-Vage, I., *Haemostatic parameters and vascular risk*. Atherosclerosis, 1996. **124 Suppl**: p. S49-55.
8. Niskanen, L., et al., *Effects of dietary fat modification on fibrinogen, factor VII, and plasminogen activator inhibitor-1 activity in subjects with impaired glucose tolerance*. Metabolism, 1997. **46**(6): p. 666-72.
9. Martinez-Calatrava, M.J., et al., *Is the plasminogen activator inhibitor-1 gene a candidate gene predisposing to hypertension? Results from a population-based study in Spain*. J Hypertens, 2007. **25**(4): p. 773-7.
10. Huber, K., et al., *Plasminogen activator inhibitor type-1 in cardiovascular disease. Status report 2001*. Thromb Res, 2001. **103 Suppl 1**: p. S7-19.
11. Stegnar, M., et al., *The 4G/5G sequence polymorphism in the promoter of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene: relationship to plasma PAI-1 level in venous thromboembolism*. Thromb Haemost, 1998. **79**(5): p. 975-9.
12. Kimura, H., et al., *Polymorphisms of angiotensin converting enzyme and plasminogen activator inhibitor-1 genes in diabetes and macroangiopathy1*. Kidney Int, 1998. **54**(5): p. 1659-69.
13. Bagos, P.G. and G.K. Nikolopoulos, *Generalized least squares for assessing trends in cumulative meta-analysis with applications in genetic epidemiology*. J Clin Epidemiol, 2009.
14. Kinik, S.T., et al., *PAI-1 gene 4G/5G polymorphism, cytokine levels and their relations with metabolic parameters in obese children*. Thromb Haemost, 2008. **99**(2): p. 352-6.
15. Kavvoura, F.K. and J.P. Ioannidis, *Methods for meta-analysis in genetic association studies: a review of their potential and pitfalls*. Hum Genet, 2008. **123**(1): p. 1-14.
16. Thakkinian, A., et al., *A method for meta-analysis of molecular association studies*. Stat Med, 2005. **24**(9): p. 1291-306.
17. Normand, S.L., *Meta-analysis: formulating, evaluating, combining, and reporting*. Stat Med, 1999. **18**(3): p. 321-59.
18. Bland, J.M. and D.G. Altman, *Statistics notes. The odds ratio*. Bmj, 2000. **320**(7247): p. 1468.
19. Simon S.d., *Statistical evidence in medical trials*. Oxford Statistics, 2006.
20. Pan, Z., et al., *Local literature bias in genetic epidemiology: an empirical evaluation of the Chinese literature*. PLoS Med, 2005. **2**(12): p. e334.
21. Ioannidis, J.P. and T.A. Trikalinos, *Early extreme contradictory estimates may appear in published research: the Proteus phenomenon in molecular genetics research and randomized trials*. J Clin Epidemiol, 2005. **58**(6): p. 543-9.
22. Hopewell, S., et al., *Grey literature in meta-analyses of randomized trials of health care interventions*. Cochrane Database Syst Rev, 2007(2): p. MR000010.

23. Saely, C.H., et al., *Type 2 diabetes significantly modulates the cardiovascular risk conferred by the PAI-1 -675 4G/5G polymorphism in angiographed coronary patients*. Clin Chim Acta, 2008. **396**(1-2): p. 18-22.
24. Naran, N.H., N. Chetty, and N.J. Crowther, *The influence of metabolic syndrome components on plasma PAI-1 concentrations is modified by the PAI-1 4G/5G genotype and ethnicity*. Atherosclerosis, 2008. **196**(1): p. 155-63.
25. Testa, R., et al., *C-reactive protein is directly related to plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) levels in diabetic subjects with the 4G allele at position -675 of the PAI-1 gene*. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2008. **18**(3): p. 220-6.
26. Meigs, J.B., et al., *PAI-1 Gene 4G/5G polymorphism and risk of type 2 diabetes in a population-based sample*. Obesity (Silver Spring), 2006. **14**(5): p. 753-8.
27. Liu, S.Q., et al., *[Relationship between plasminogen activator inhibitor-1 gene 4G/5G polymorphism and type 2 diabetic nephropathy in Chinese Han patients in Guangdong Province]*. Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2004. **24**(8): p. 904-7.
28. Murata, M., et al., *Paraoxonase 1 Gln/Arg polymorphism is associated with the risk of microangiopathy in Type 2 diabetes mellitus*. Diabet Med, 2004. **21**(8): p. 837-44.
29. He, J.Q., et al., *Genetic variants of the hemostatic system and development of transplant coronary artery disease*. J Heart Lung Transplant, 2002. **21**(6): p. 629-36.
30. Wong, T.Y., et al., *Association of plasminogen activator inhibitor-1 4G/4G genotype and type 2 diabetic nephropathy in Chinese patients*. Kidney Int, 2000. **57**(2): p. 632-8.
31. Mansfield, M.W., M.H. Stickland, and P.J. Grant, *PAI-1 concentrations in first-degree relatives of patients with non-insulin-dependent diabetes: metabolic and genetic associations*. Thromb Haemost, 1997. **77**(2): p. 357-61.
32. McCormack, L.J., et al., *Promoter (4G/5G) plasminogen activator inhibitor-1 genotype in Pima Indians: relationship to plasminogen activator inhibitor-1 levels and features of the insulin resistance syndrome*. Diabetologia, 1996. **39**(12): p. 1512-8.
33. Lopez-Bermejo, A., et al., *Insulin resistance after precocious pubarche: relation to PAI-1-675 4G/5G polymorphism, and opposing influences of prenatal and postnatal weight gain*. Clin Endocrinol (Oxf), 2007. **67**(4): p. 493-9.
34. Kinik, S.T., et al., *The effect of plasminogen activator inhibitor-1 gene 4G/5G polymorphism on glucose and lipid metabolisms in Turkish obese children*. Clin Endocrinol (Oxf), 2005. **62**(5): p. 607-10.
35. Kitamura, Y., et al., *Association of plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G gene polymorphism with variations in the LDL particle size in healthy Japanese men*. Clin Chim Acta, 2004. **347**(1-2): p. 209-16.
36. Roncal, C., et al., *Influence of the 4G/5G PAI-1 genotype on angiotensin II-stimulated human endothelial cells and in patients with hypertension*. Cardiovasc Res, 2004. **63**(1): p. 176-85.
37. Lopes, C., et al., *PAI-1 polymorphisms modulate phenotypes associated with the metabolic syndrome in obese and diabetic Caucasian population*. Diabetologia, 2003. **46**(9): p. 1284-90.

38. Jeng, J.R., *Association of PAI-1 gene promoter 4g/5g polymorphism with plasma PAI-1 activity in Chinese patients with and without hypertension*. Am J Hypertens, 2003. **16**(4): p. 290-6.
39. Brown, N.J., et al., *Interactive effect of PAI-1 4G/5G genotype and salt intake on PAI-1 antigen*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001. **21**(6): p. 1071-7.
40. van Harmelen, V., et al., *Role of gender and genetic variance in plasminogen activator inhibitor-1 secretion from human adipose tissue*. Thromb Haemost, 2000. **83**(2): p. 304-8.
41. Cesari, M., et al., *Determinants of plasma levels of plasminogen activator inhibitor-1 : A study of normotensive twins*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1999. **19**(2): p. 316-20.
42. Nagi, D.K., et al., *Diabetic retinopathy, promoter (4G/5G) polymorphism of PAI-1 gene, and PAI-1 activity in Pima Indians with type 2 diabetes*. Diabetes Care, 1997. **20**(8): p. 1304-9.
43. Segui, R., et al., *PAI-1 promoter 4G/5G genotype as an additional risk factor for venous thrombosis in subjects with genetic thrombophilic defects*. Br J Haematol, 2000. **111**(1): p. 122-8.
44. Estelles, A., et al., *Plasma PAI-1 levels in obese children--effect of weight loss and influence of PAI-1 promoter 4G/5G genotype*. Thromb Haemost, 2001. **86**(2): p. 647-52.
45. disabled.gr, *Η ναυοτεταχνολογία στην αντιμετώπιση του διαβήτη*. αναπηρία τώρα, 2009.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

6.1) Άρθρα που απορρίφθηκαν:

Όπως αναφέρθηκε πιο πάνω μετά από μελέτη και έλεγχο όλων των άρθρων που προέκυψαν από την αναζήτηση φτάσαμε σε σημείο να χρησιμοποιήσουμε μόνο 23 από αυτά. Οι λόγοι που απορρίφθηκαν τα υπόλοιπα έχουν αναφερθεί στο Κεφάλαιο 3, σελίδα 37 και παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα 6 με το κωδικό PMID που έχουν στη βάση δεδομένων της Pubmed του NCBI.

Πίνακας 86: Τα άρθρα που απορρίψαμε μετά από έλεγχο και μελέτη των δεδομένων τους.

PMID	PMID	PMID	PMID	PMID
19066200	17144095	15920035	15920035	14592559
19061349	17126309	15899961	15899961	14530509
19033264	16981142	15886801	15886801	14512309
18953568	16926677	15869586	15869586	14508198
18800612	16900220	15831362	15831362	12951282
18728123	16896567	15772559	15772559	12942549
18685811	16883539	15772555	15772555	12878984
18473800	16879220	15768007	15768007	12801613
18427128	16865100	15718364	15718364	12783120
18312663	16843437	15673060	15673060	12761670
18278185	16789641	15639949	15639949	12756475
18258607	16776623	15606380	15606380	12735065
18216319	16760910	15580650	15580650	12719278
18173921	16741355	15575342	15575342	12660488
18160587	16735791	15554360	15554360	12655783
18091579	16569213	15543316	15543316	12529745
18086672	16525596	15526518	15526518	12524233
18064331	16510100	15481848	15481848	12514663
18057060	16507937	15467059	15467059	12508953
18037477	16505491	15309293	15309293	12508941
18024289	16498597	15297806	15297806	12498158
17938812	16496609	15218974	15218974	12477941
17896948	16483878	15213845	15213845	12444310
17875821	16449022	15191349	15191349	12438962
17723126	16436671	15181035	15181035	12431476
17689411	16416371	15151261	15151261	12430899
17688607	16379339	15121769	15121769	12430242
17670902	16305054	15116245	15116245	12430213
17656673	16251994	15079805	15079805	12393531
17559626	16244770	15013661	15013661	12187010
17473572	16202290	14996484	14996484	12038776
17384280	16172282	14974371	14974371	12032637
17351368	16130596	14765999	14765999	12006921
17325032	16052406	14699709	14699709	11981424
17284699	16046298	14681304	14681304	11920334
17263760	16020771	14679787	14679787	11919188
17200772	16002416	14671398	14671398	11887975
17199731	15968405	14669168	14669168	11849662
17187688	15956119	14631138	14631138	11848437
17172275	15950223	14629464	14629464	11821270
14592559	11816701	9721533	7828779	17197388
14530509	11804984	9686529	7841605	17129361
14512309	11751851	9609232	7974340	17119035
14508198	11709802	9591757	8111705	17103409
12951282	11583306	9562351	7692018	17062678
12942549	11567664	9555861	1756494	16970803
12878984	11427204	9544737	3889926	16902162

12801613	11422656	9540037	19351570	16879223
12783120	11385207	9534297	19270747	16874588
12761670	11357934	9524054	19238514	16856978
12756475	11307805	9519344	19179614	16706983
12735065	11240843	9498646	19179414	16601674
12719278	11209987	9493590	19136383	16585856
12660488	11176199	9474617	18991164	16488411
12655783	11054622	9389733	18938748	16409470
12529745	10997795	9445260	18803625	16363254
12524233	10980830	9445251	18774162	16331557
12514663	10937809	9439545	18519558	16330024
12508953	10927066	9430399	18463321	16304806
12508941	10905498	9409318	18434418	16279946
12498158	10870808	9409314	18423526	16274483
12477941	10853003	9365001	18284606	16179568
12444310	10829013	9233830	18263635	16157679
12438962	10809802	9198196	18179754	16115939
12431476	10759003	9218152	18094179	16105028
12430899	10641442	9186303	17984099	16039281
12430242	10634818	9157947	17903294	16030249
12430213	10631643	8994417	17899094	15995637
12393531	10599993	8950669	17895116	15907980
12187010	10595645	8908392	17884148	15857671
12038776	10581347	8970763	17869046	15829300
12032637	10577569	8927337	17763167	15808835
12006921	10495473	8831916	17636407	15795535
11981424	10494775	8743897	17579282	15721275
11920334	10494771	8521557	17555268	15718495
11919188	10456464	8560407	17541549	15688032
11887975	10401028	8571308	17513622	15650551
11849662	10235439	8523346	17372611	15650546
11848437	10206447	8817679	17316567	15630497
11821270	9812921	7813812	17310123	15609280
15529352	12428096	11068075	9886263	8635500
15269831	12421149	11057874	9873066	8635485
15229905	12406875	11037896	9869167	8620347
15182577	12379307	11034589	9865665	8548412
15087600	12361206	11019973	9851810	8675633
15051713	12360174	11018040	9843175	7624320
15022316	12208516	11013347	9733214	8578529
14977830	12160726	11010963	9721281	7731684
14963743	12141403	11010817	9679767	7731140
14963283	12123491	11001948	9662256	7949170
14742985	12123488	11000733	9603932	7918451
14653439	12111005	10961693	9618146	8090721
14647462	11960650	10942788	9566718	8203711
14606113	11776328	10928474	9526590	8130024
14597716	11745435	10889239	9502413	8107282
14593385	11738073	10870849	9488791	8254028
14592829	11586573	10842191	9484978	8247019
14585904	11559366	10803689	9454902	8225669
14556193	11546774	10777210	9351375	8388372
14515194	11525425	10767123	9308763	8427859
12956767	11522016	10744143	9294432	1456879
12944478	11503135	10732304	9269770	1529901
12941041	11487026	10722567	9279972	1342288
12897205	11485022	10708958	9207454	1591729
12891381	11484981	10650857	9209499	1377417

12873656	11457467	10634408	9151885	1730087
12869309	11455129	10590062	9151696	1727378
12826050	11394899	10554707	9129718	1922028
12719791	11330536	10485495	9108791	1898737
12704650	11278713	10477732	9094310	2129190
12700971	11237830	10451556	9083758	2119522
12669126	11229822	10365747	9037208	2105933
12643326	11209988	10326760	9255906	2498004
12634951	11158406	10235438	9012634	2494165
12601885	11157728	10235437	8984946	
12595493	11157725	10235431	8704250	
12536348	10752934	10233896	8674071	
12525700	11085286	10204507	8668338	
12514788	11084022	10102471	8803721	
12446693	11077219	10090937	8627066	

6.2) Αποτελέσματα για το διαβήτη

6.2.1)Μέτα-ανάλυση:

Ακολουθώς θα παρατεθούν εκτενέστερα όλες οι εντολές που δοθήκαν κατά τη διαδικασία της μέτα-ανάλυσης μαζί με τα αποτελέσματά τους.

Για την σύγκριση του 4G/5G+5G/5G έναντι του 4G/4G:

```
gen logor_dom=log(((nab1+nbb1)/naa1)/((nab0+nbb0)/naa0))
replace
logor_dom=log(((nab1+nbb1+0.5)/(naa1+0.5))/((nab0+nbb0+0.5)/(naa0+0.5))) if naa0==0 |nbb0+nab0==0|
> naa1==0 |nbb1+nab1==0
gen var_dom=(1/naa0+1/(nab0+nbb0)+1/naa1+1/(nab1+nbb1))
replace var_dom= 1/(naa0+0.5) +1/(nab0+nbb0+0.5) +1/(naa1+0.5)
+1/(nab1+nbb1+0.5) if naa0==0 |nab0+nbb0==0
> |naa1==0 |nab1+nbb1==0
gen a4=logor_dom
gen v44=var_dom
gen se_dom=sqrt(var_dom)
metan logor_dom se_dom,eform random by(fylh)
label(namevar=author,yearvar=year) xlab(0.1,1,3)
metan logor_dom se_dom,randomi label(namevar=author,yearvar=year)
by(hwe)
```

Πίνακας 96.1: Στον πίνακα φαίνονται οι παράμετροι της ετερογένειας τ^2 τ-squared, I-squared & Q-squared Q^2 .

Study	ES	[95% Conf. Interval]		% Weight	
<hr/>					1
Saely CH (2008)	1.439	0.900	2.301	9.18	
Naran NH (2008)	1.039	0.550	1.961	7.95	
Testa R (2008)	0.956	0.666	1.374	9.93	
Meigs JB (2006)	0.382	0.301	0.484	10.66	
He JQ (2002)	0.933	0.203	4.285	3.31	
Mansfield MW (1997)	1.266	0.695	2.306	8.21	
Sub-total					
D+L pooled ES	0.908	0.516	1.599	49.23	
<hr/>					3
Naran NH (2008)	0.980	0.538	1.783	8.22	
Sub-total					
D+L pooled ES	0.980	0.538	1.783	8.22	
<hr/>					4

Naran NH (2008)		1.102	0.357	3.398	4.87	
Sub-total						
D+L pooled ES		1.102	0.357	3.398	4.87	
-----						2
Liu SQ (2004)		1.170	0.432	3.170	5.55	
Murata M (2004)		1.226	0.602	2.500	7.39	
Wong TY (2000)		0.750	0.376	1.495	7.55	
Kimura H (1998)		1.365	0.783	2.379	8.54	
Sub-total						
D+L pooled ES		1.123	0.794	1.588	29.04	

5						
McCormack LJ (1996)		0.803	0.467	1.382	8.64	
Sub-total						
D+L pooled ES		0.803	0.467	1.382	8.64	

Overall						
D+L pooled ES		0.960	0.690	1.335	100.00	

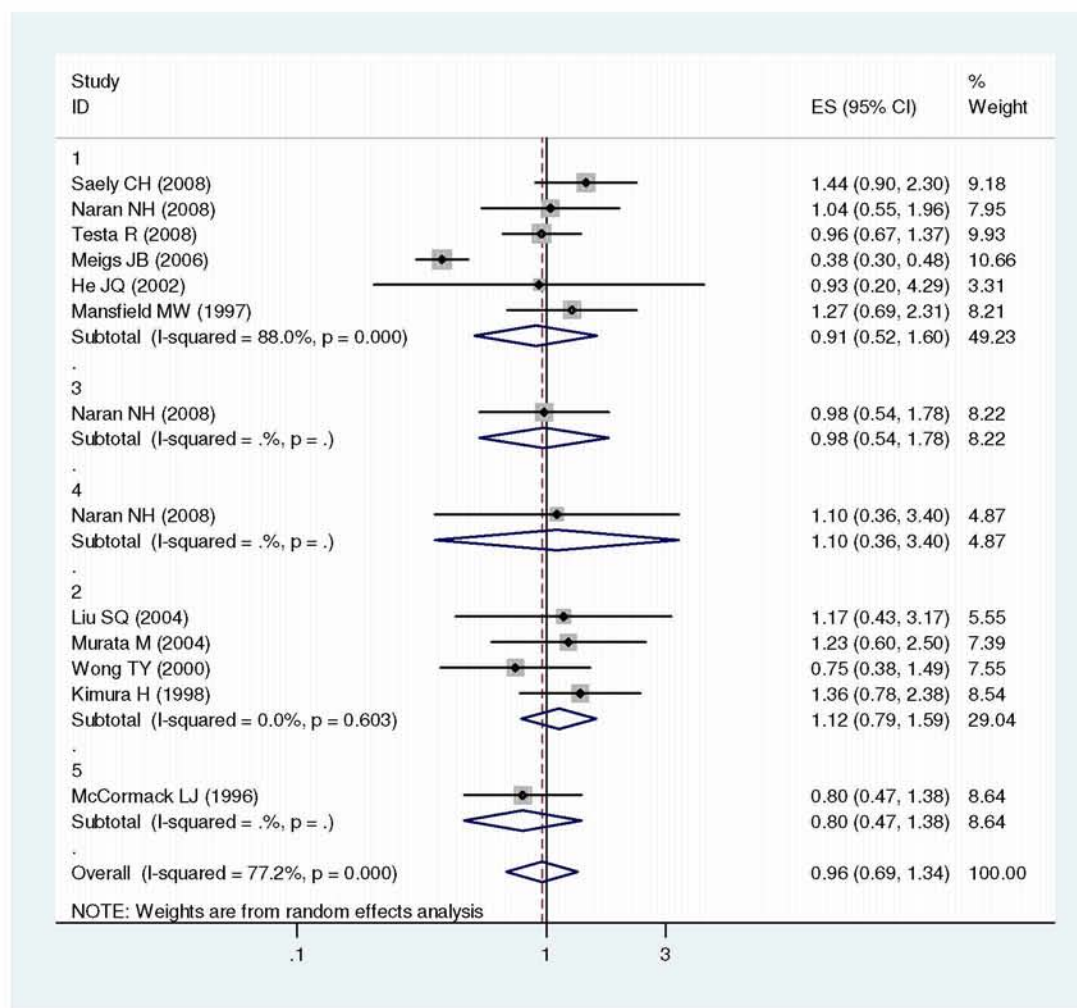
Test(s) of heterogeneity:						
	Heterogeneity	degrees of				
	statistic	freedom	P	I-squared**	Tau-	
squared						
1	41.76	5	0.000	88.0%	0.3961	
3	0.00	0	.	.%	0.0000	
4	0.00	0	.	.%	0.0000	
2	1.86	3	0.603	0.0%	0.0000	
5	0.00	0	.	.%	0.0000	
Overall	52.61	12	0.000	77.2%	0.2510	

Από τον παραπάνω πίνακα 6.1 και παρατηρώντας το συνολικό OR το οποίο είναι 0.960 καθώς επίσης και το συνολικό διάστημα εμπιστοσύνης που είναι (0.690 1.335) συμπεραίνουμε ότι δεν υπάρχει συσχέτιση. Αυτό προκύπτει από το γεγονός ότι στο συνολικό διάστημα εμπιστοσύνης περιέχεται η τιμή 1. Επίσης φαίνεται να υπάρχει σημαντική ετερογένεια αφού η τιμή του p-value είναι μικρότερη από 0.01 I^2 για τους caucasians αλλά και για το σύνολο όλων των πληθυσμών.

Πίνακας 6.2: Αποτελέσματα της μέτα-ανάλυσης ανά φυλή, τεστ σημαντικότητας, για τη σύμπτυξη 104G/5G+5G/5G έναντι του 4G/4G.

Significance test(s) of ES=1		
1	z= 0.33	p = 0.739
3	z= 0.07	p = 0.946
4	z= 0.17	p = 0.866
2	z= 0.65	p = 0.513
5	z= 0.79	p = 0.429
Overall	z= 0.24	p = 0.809

Η συσχέτιση της ασθένειας με το πολυμορφισμό δεν επηρεάζεται από τη φυλή. Αυτό μπορούμε να το διαπιστώσουμε από την τιμή των p-value (πίνακας 6.2) που είναι μεγαλύτερη από 0.05.

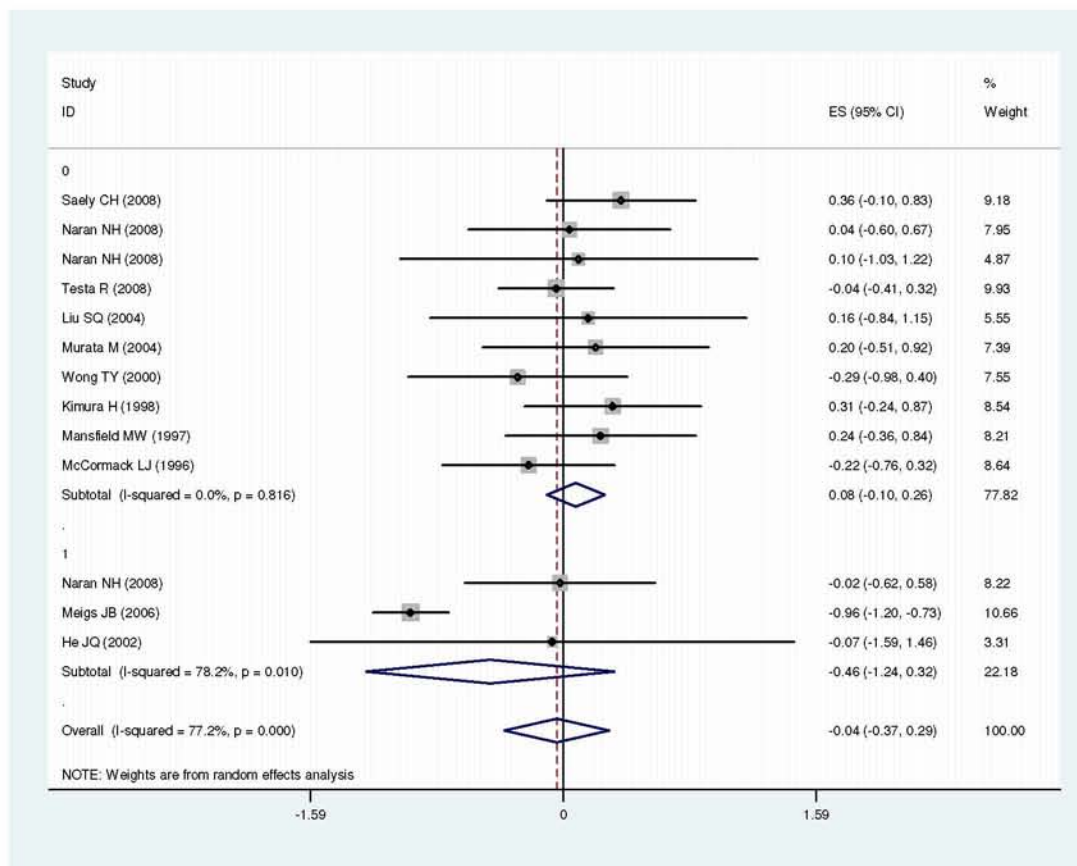


Εικόνα 1: Αποτελέσματα της μέτα-ανάλυσης για τη σύμπτωση 4G/5G+5G/5G έναντι του 4G/4G ανά φυλή.

Από τον παρακάτω πίνακα 6.3 και παρατηρώντας τη τιμή των p-value, παρατηρούμε ότι η ισορροπία δεν επηρεάζει τη συσχέτιση της ασθένειας του διαβήτη με το πολυμορφισμό.

Πίνακας 116.3: test σημαντικότητας για την ισορροπία στη σύμπτωση 4G/5G+5G/5G έναντι του 4G/4G.

Significance test(s) of ES=0		
0	z= 0.85	p = 0.398
1	z= 1.15	p = 0.251
Overall	z= 0.24	p = 0.809



Εικόνα 2: «forest plot» της μέτα-ανάλυσης με βάση την ισορροπία στη σύμπτυξη 4G/5G+5G/5G έναντι του 4G/4G.

Για την σύγκριση του 4G/5G&4G/4G έναντι του 5G/5G:

```

gen logor_res=log(( (nbb1)/ (nab1+naa1))/( (nbb0)/(nab0+naa0)))
replace
logor_res=log(((nbb1+0.5)/(naa1+nab1+0.5))/((nbb0+0.5)/(naa0+nab1+0.5))) if nab0+naa0==0 |nbb0==0|
> nab1+naa1==0 |nbb1==0
gen var_res=(1/nbb0 +1/(nab0+naa0) +1/nbb1 +1/(nab1+naa1))
replace var_res= 1/(nab0+naa0+0.5) +1/(nbb0+0.5) +1/(nab1+naa1+0.5)
+1/(nbb1+0.5) if nab0+naa0==0 |nbb0==
> 0|nab1+naa1==0 |nbb1==0
gen a2=logor_res
gen v22=var_res
gen se_res=sqrt(var_res)
metan logor_res se_res,eform random by(fylh)
label(namevar=author,yearvar=year) xlab(0.1,1,3)
metan logor_res se_res,randomi label(namevar=author,yearvar=year)
by(hwe)

```

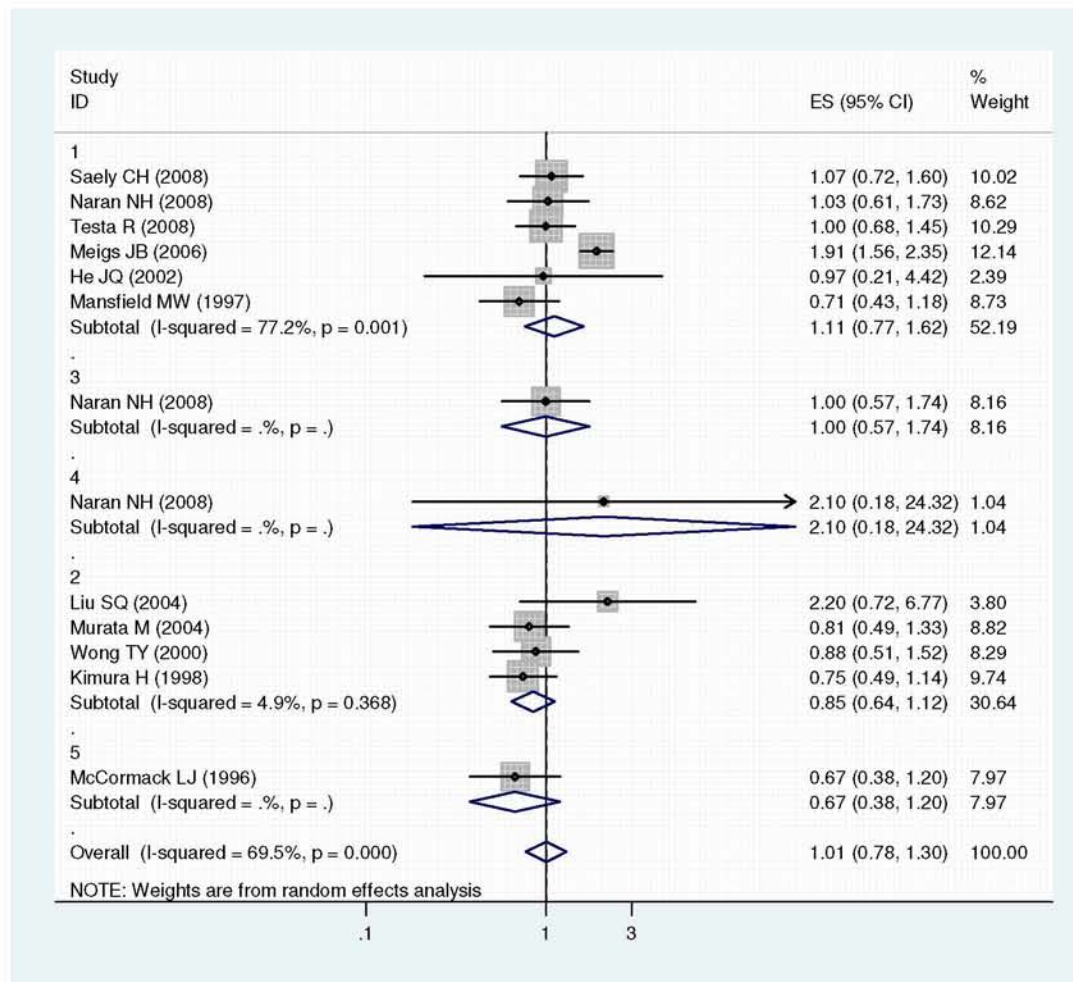
Πίνακας126.4: Στον πίνακα φαίνονται οι παράμετροι της ετερογένειας τ^2 τ -squared, I-squared & Q-squared Q^2 .

Study		ES	[95% Conf. Interval]		% Weight
-----+-----					
1					
Saely CH (2008)		1.075	0.720	1.604	10.02
Naran NH (2008)		1.028	0.612	1.727	8.62
Testa R (2008)		0.996	0.683	1.452	10.29
Meigs JB (2006)		1.912	1.556	2.350	12.14
He JQ (2002)		0.967	0.211	4.418	2.39
Mansfield MW (1997)		0.712	0.428	1.184	8.73
Sub-total					
D+L pooled ES		1.113	0.766	1.616	52.19
-----+-----					
3					
Naran NH (2008)		0.996	0.569	1.744	8.16
Sub-total					
D+L pooled ES		0.996	0.569	1.744	8.16
-----+-----					
4					
Naran NH (2008)		2.100	0.181	24.323	1.04
Sub-total					
D+L pooled ES		2.100	0.181	24.323	1.04
-----+-----					
2					
Liu SQ (2004)		2.200	0.715	6.769	3.80
Murata M (2004)		0.808	0.489	1.335	8.82
Wong TY (2000)		0.878	0.508	1.519	8.29
Kimura H (1998)		0.747	0.489	1.142	9.74
Sub-total					
D+L pooled ES		0.850	0.643	1.125	30.64
-----+-----					
5					
McCormack LJ (1996)		0.673	0.378	1.199	7.97
Sub-total					
D+L pooled ES		0.673	0.378	1.199	7.97
-----+-----					
Overall					
D+L pooled ES		1.005	0.775	1.303	100.00
-----+-----					
Test(s) of heterogeneity:					
	Heterogeneity	degrees of			
	statistic	freedom	P	I-squared**	Tau-
squared					
1	21.93	5	0.001	77.2%	0.1478
3	0.00	0	.	.%	0.0000
4	0.00	0	.	.%	0.0000
2	3.16	3	0.368	4.9%	0.0043
5	0.00	0	.	.%	0.0000
Overall	39.31	12	0.000	69.5%	0.1335

Παρατηρώντας το συνολικό OR που είναι 1.005 και το συνολικό διάστημα εμπιστοσύνης (0.775 1.303) συμπεραίνουμε ότι δεν υπάρχει συσχέτιση αφού στο διάστημα εμπιστοσύνης περιέχεται η τιμή 1 (διαγραμματικά, φαίνεται στην εικόνα 3). Στην περίπτωση αυτή φαίνεται να υπάρχει μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών. Το p-value είναι μικρότερο από 0.01 για τους caucasians αλλά και για το σύνολο όλων των πληθυσμών και το I-squared I^2 μεγαλύτερο από 50% γεγονός που αποδεικνύει την ύπαρξη ετερογένειας.

Πίνακας136.5: test σημαντικότητας για τη φυλή στη σύμπτυξη 4G/5G+4G/4G έναντι του 5G/5G
Significance test(s) of ES=1

1	z= 0.56	p = 0.576
3	z= 0.01	p = 0.989
4	z= 0.59	p = 0.553
2	z= 1.14	p = 0.256
5	z= 1.34	p = 0.179
Overall	z= 0.04	p = 0.969

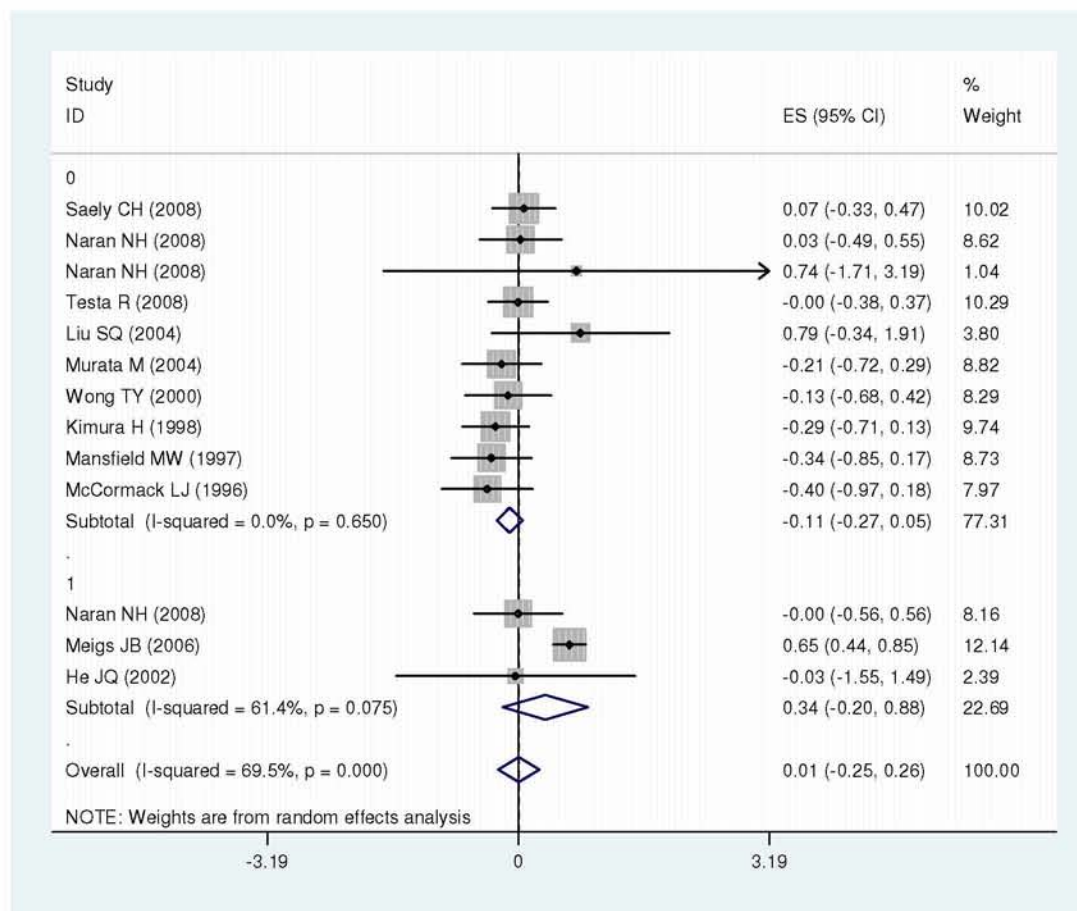


Εικόνα 3: «forest plot» της μέτα-ανάλυσης με βάση τη φυλή στη σύμπτυξη 4G/5G+4G/4G έναντι του 5G/5G.

Κατά τη μέτα-ανάλυση που πραγματοποιήθηκε με βάση την ισορροπία Hardy-Weinberg, δεν βρέθηκε πάλι κάποια συσχέτιση. Αυτό σημαίνει ότι η ισορροπία δεν επηρεάζει τη συσχέτιση μεταξύ πολυμορφισμού και ασθένειας. Τα p-value (πίνακας 6.6) έχουν τιμή μεγαλύτερη από 0.05.

Πίνακας146.6: test σημαντικότητας για την ισορροπία στη σύμπτυξη 4G/5G+4G/4G έναντι του 5G/5G.
Significance test(s) of ES=0

0	z= 1.32	p = 0.187
1	z= 1.25	p = 0.212
Overall	z= 0.04	p = 0.969



Εικόνα 4: «forest plot» της μέτα-ανάλυση με βάση την ισορροπία στη σύμπτυξη 4G/5G+4G/4G έναντι του 5G/5G.

Για τη σύγκριση του 4G αλληλόμορφου με το 5G αλληλόμορφο:

```

gen
logor_allele=log(((2*nbb1+nab1)/(2*naa1+nab1))/((2*nbb0+nab0)/(2*naa0+nab0)))
replace logor_allele=log(((2*nbb1+nab1+0.5)/(nab1+2*naa1+0.5))/((2*nbb0+nab0+0.5)/(nab0+2*naa0+0.5))) if
> f nab0+2*naa0==0 |2*nbb0+nab0==0|nab1+2*naa1==0 |2*nbb1+nab1==0
gen
var_allele=(1/(2*nbb1+nab1)+1/(2*naa1+nab1)+1/(2*nbb0+nab0)+1/(2*naa0+nab0))
replace var_allele=(1/(2*nbb1+nab1+0.5) +1/(nab1+2*naa1+0.5)
+1/(2*nbb0+nab0+0.5) +1/(nab0+2*naa0+0.5)) if
> nab0+2*naa0==0 |2*nbb0+nab0==0|nab1+2*naa1==0 |2*nbb1+nab1==0
gen a3=logor_allele
gen v33=var_allele
gen se_allele=sqrt(var_allele)
metan logor_allele se_allele,eform random by(fylh)
label(namevar=author,yearvar=year) xlab(0.1,1,3)
metan logor_allele se_allele,randomi
label(namevar=author,yearvar=year) by(hwe)

```

Πίνακας 156.7: Στον πίνακα φαίνονται οι παράμετροι της ετερογένειας τ^2 τ -squared, I-squared & Q-squared Q^2 .

Study		ES	[95% Conf. Interval]		% Weight	

1						
Saely CH (2008)		1.161	0.895	1.505	9.07	
Naran NH (2008)		1.026	0.716	1.469	4.74	
Testa R (2008)		0.981	0.780	1.234	11.62	
Meigs JB (2006)		0.948	0.839	1.072	40.47	
He JQ (2002)		0.956	0.347	2.634	0.59	
Mansfield MW (1997)		0.928	0.663	1.298	5.40	
Sub-total						
D+L pooled ES		0.982	0.895	1.076	71.89	

3						
Naran NH (2008)		0.990	0.680	1.442	4.33	
Sub-total						
D+L pooled ES		0.990	0.680	1.442	4.33	

4						
Naran NH (2008)		1.198	0.451	3.185	0.64	
Sub-total						
D+L pooled ES		1.198	0.451	3.185	0.64	

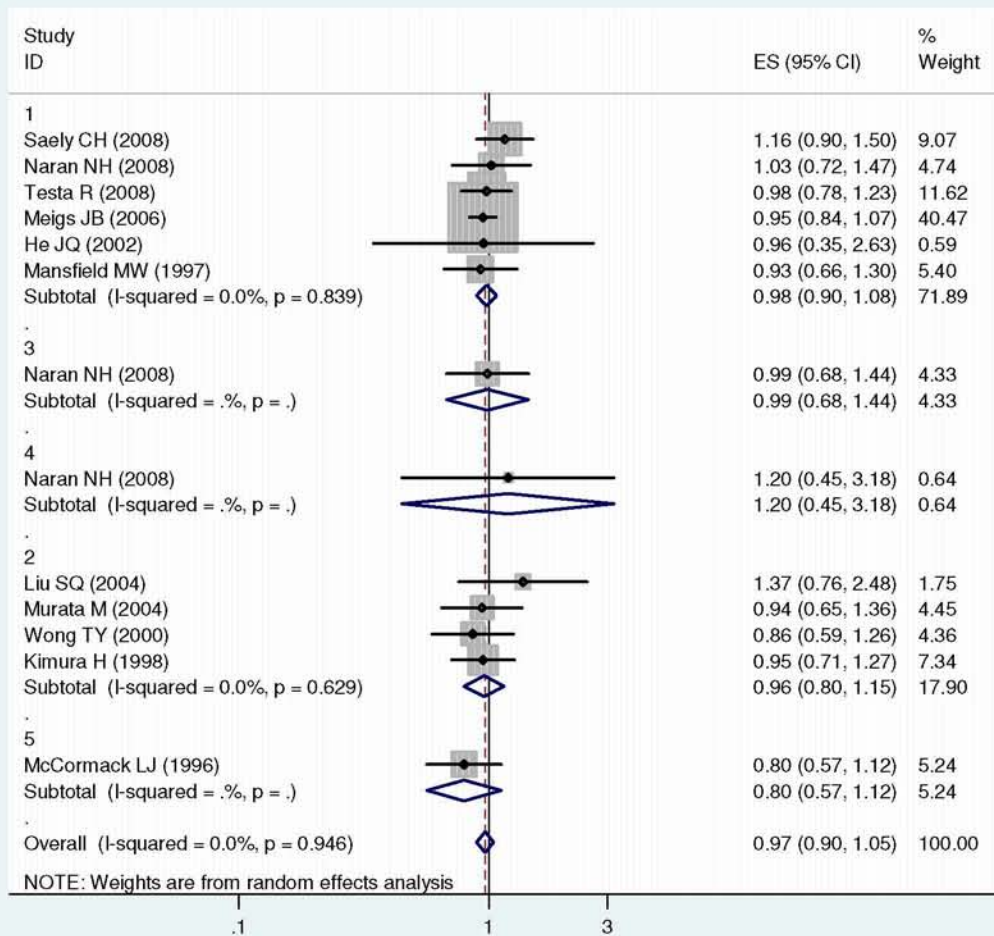
2						
Liu SQ (2004)		1.374	0.761	2.483	1.75	
Murata M (2004)		0.940	0.649	1.362	4.45	
Wong TY (2000)		0.863	0.594	1.255	4.36	
Kimura H (1998)		0.950	0.712	1.268	7.34	
Sub-total						
D+L pooled ES		0.960	0.798	1.155	17.90	

5						
McCormack LJ (1996)		0.797	0.567	1.122	5.24	
Sub-total						
D+L pooled ES		0.797	0.567	1.122	5.24	

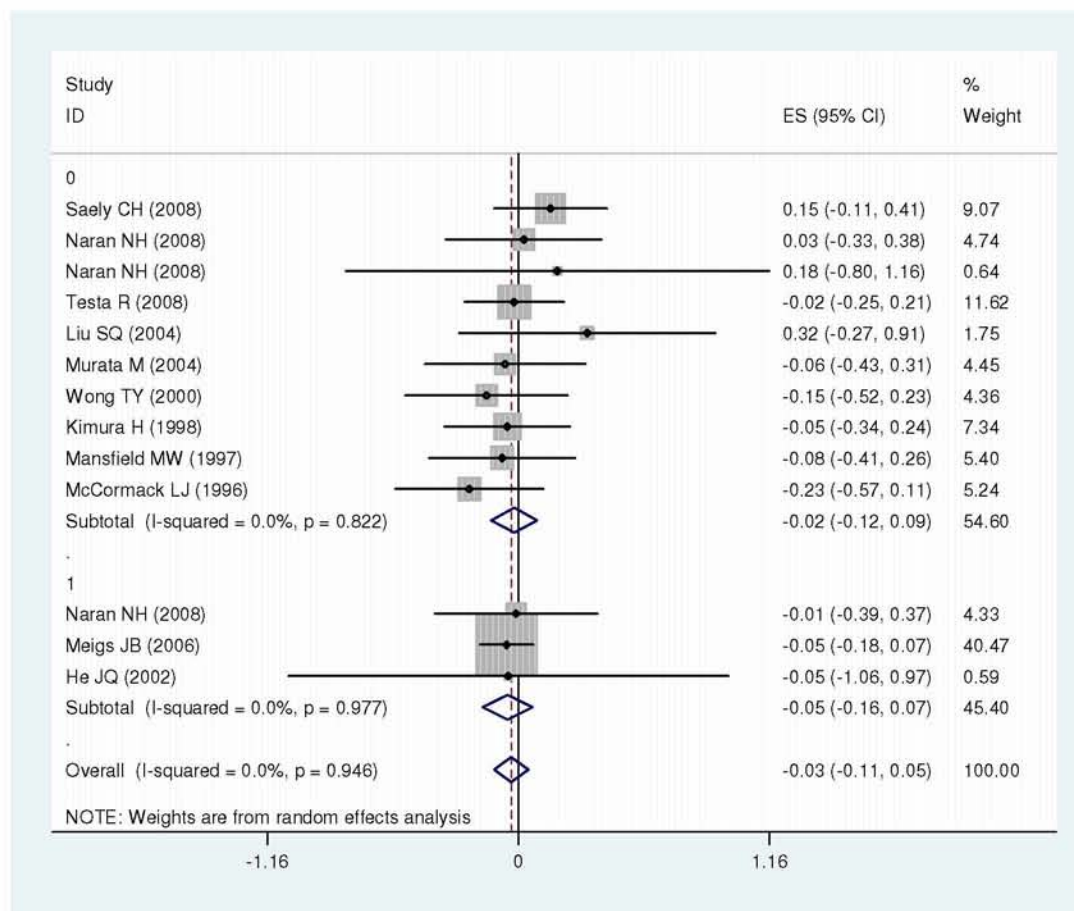
Overall						
D+L pooled ES		0.969	0.896	1.047	100.00	

Test(s) of heterogeneity:						
		Heterogeneity	degrees of			
		statistic	freedom	P	I-squared**	Tau-
squared						
1		2.07	5	0.839	0.0%	0.0000
3		0.00	0	.	0.0%	0.0000
4		0.00	0	.	0.0%	0.0000
2		1.74	3	0.629	0.0%	0.0000
5		0.00	0	.	0.0%	0.0000
Overall		5.34	12	0.946	0.0%	0.0000

Φαίνεται ότι δεν υπάρχει συσχέτιση αφού το OR είναι 0.969 και το διάστημα εμπιστοσύνης (0.896 – 1.047) περιέχει την τιμή 1. Ακόμη παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει ετερογένεια μεταξύ των μελετών καθώς το p-value μεγαλύτερο από 0.01 και I^2 I-squared κοντά στο μηδέν.



Εικόνα 5: «forest plot» της μέτα-ανάλυση με βάση την φυλή στη σύγκριση 4G έναντι του 5G.



Εικόνα 6: «forest plot» της μέτα-ανάλυσης με βάση την ισορροπία στη σύγκριση 4G έναντι του 5G.

6.2.2) Αποτελέσματα για το σφάλμα δημοσίευσης:

Για την σύγκριση του 4G/5G+5G/5G έναντι του 4G/4G:

`metabias a4 se_dom, graph(begg)`

Πίνακας 6.8: Στον πίνακα φαίνεται η τιμή του p-value που υποδεικνύει αν υπάρχει ή όχι συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης.

Tests for Publication Bias

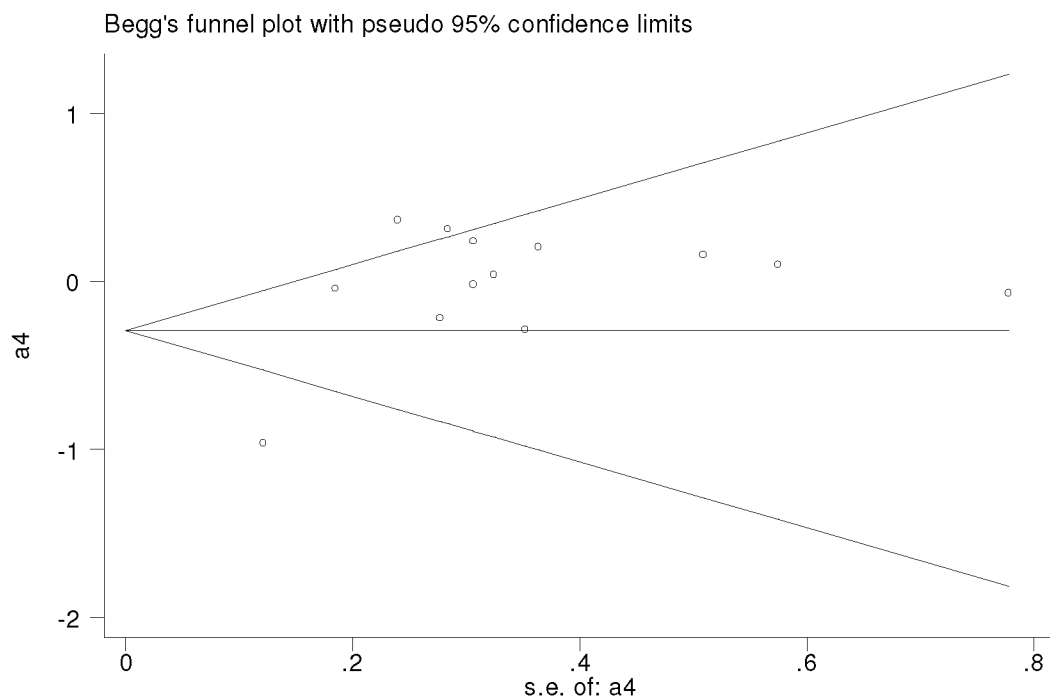
Begg's Test

```
adj. Kendall's Score (P-Q) =      -16
Std. Dev. of Score =      16.39
Number of Studies =          13
z =      -0.98
Pr > |z| =      0.329
z =      0.92 (continuity corrected)
Pr > |z| =      0.360 (continuity corrected)
```

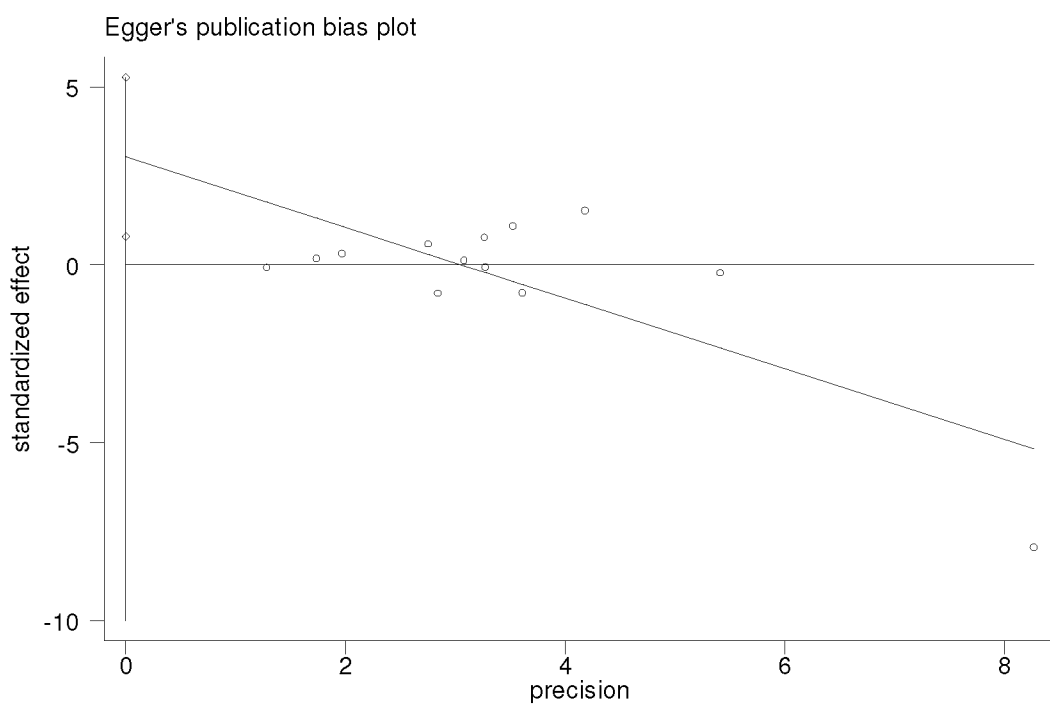
Egger's test

Std_Eff	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
slope	-.9934741	.2618872	-3.79	0.003	-1.569884 -
.4170642					
bias	3.038026	1.015993	2.99	0.012	.8018413
5.274211					

Όπως βλέπουμε τα p-value είναι μικρότερα από 0.05 συνεπώς υπάρχει συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης.



Εικόνα 7: Το γράφημα του Begg.



Εικόνα 28: Το γράφημα του Egger.

Για την σύγκριση του 4G/5G+4G/4G έναντι του 5G/5G:

metabias a2 se_res, graph(begg)

Πίνακας 6.9: Αποτελέσματα του τεστ για το συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης για τη σύμπτυξη γονοτύπων 4G/5G&4G/4G vs 5G/5G.

Tests for Publication Bias

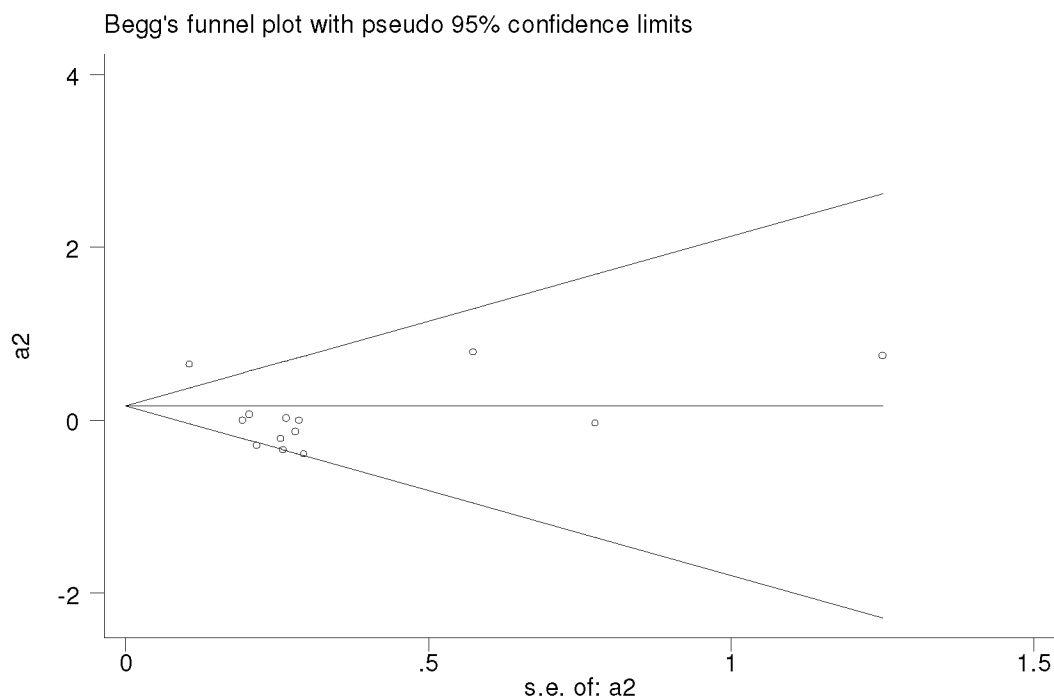
Begg's Test

```
adj. Kendall's Score (P-Q) =      12
Std. Dev. of Score =      16.39
Number of Studies =      13
      z =      0.73
Pr > |z| =      0.464
      z =      0.67 (continuity corrected)
Pr > |z| =      0.502 (continuity corrected)
```

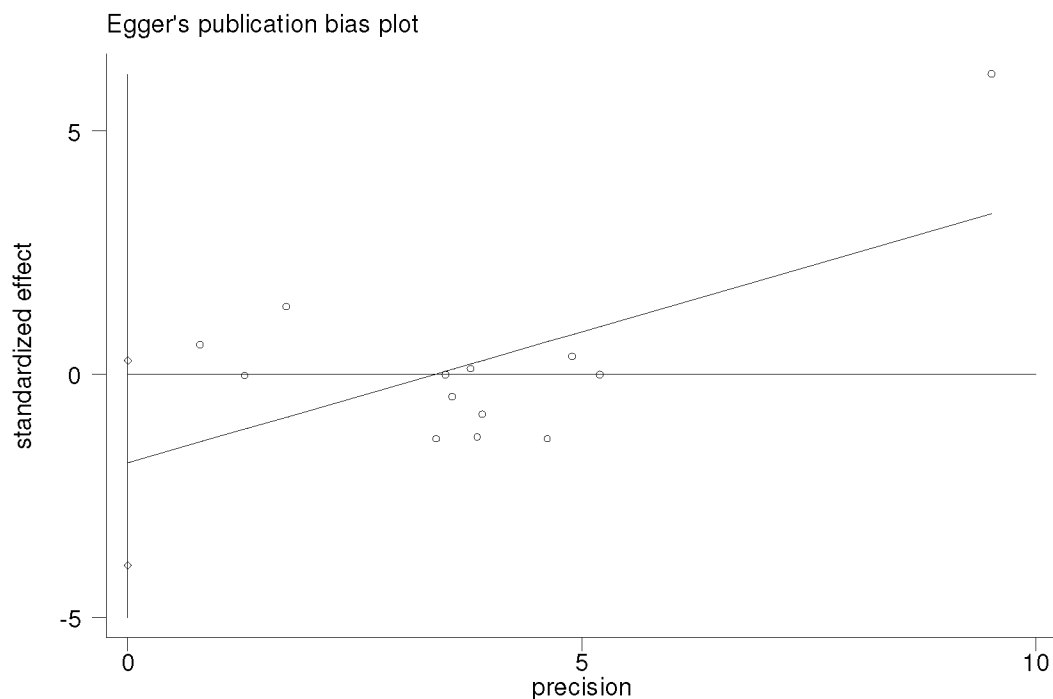
Egger's test

	Std_Eff	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
slope	1.019232	.5382727	.2185202	2.46	0.031	.0573129
bias	.2793057	-1.825605	.9563493	-1.91	0.083	-3.930515

Όπως φαίνεται από το πίνακα 6.9, η τιμή των p-value είναι μεγαλύτερη από 0.05, γεγονός που μας δείχνει ότι δεν υπάρχει σφάλμα δημοσίευσης. Πιο κάτω είναι τα αντίστοιχα γραφήματα του Begg και του Egger.



Εικόνα 39: Το γράφημα του Begg.



Εικόνα 10: Το γράφημα του Egger.

Για τη σύγκριση του 4G αλληλόμορφου με το 5G αλληλόμορφο:
`metabias a3 se_allele, graph(begg)`

Πίνακας 6.10: Αποτελέσματα του τεστ για το συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης για τη σύμπτυξη γονοτύπων 4G/4G vs 5G/5G.

Tests for Publication Bias

Begg's Test

```

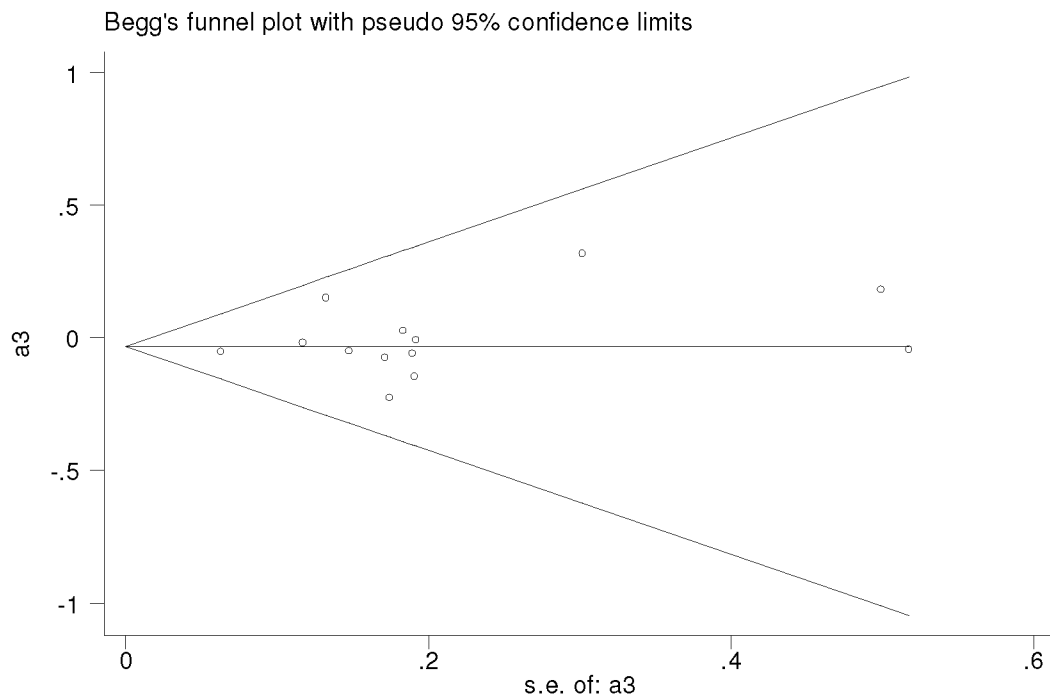
adj. Kendall's Score (P-Q) =      12
  Std. Dev. of Score =    16.39
  Number of Studies =       13
      z =      0.73
  Pr > |z| =    0.464
      z =      0.67 (continuity corrected)
  Pr > |z| =    0.502 (continuity corrected)

```

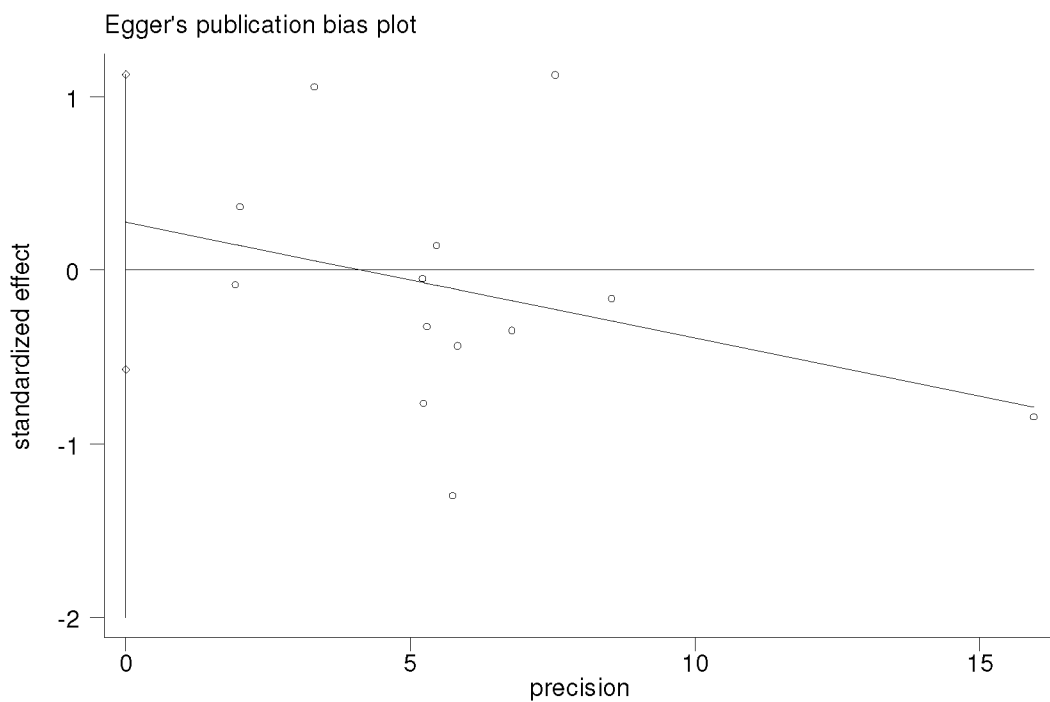
Egger's test

	Std_Eff	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
slope	.0556191	-.0666645	.0555586	-1.20	0.255	-.1889481
bias	1.127575	.2771111	.3864014	0.72	0.488	-.5733527

Όμοίως με τα παραπάνω αποτελέσματα.



Εικόνα 11: Το γράφημα του Begg.



Εικόνα 12: Το γράφημα του Egger.

6.2.3) Αποτελέσματα για το φαινόμενο του Πρωτέα:

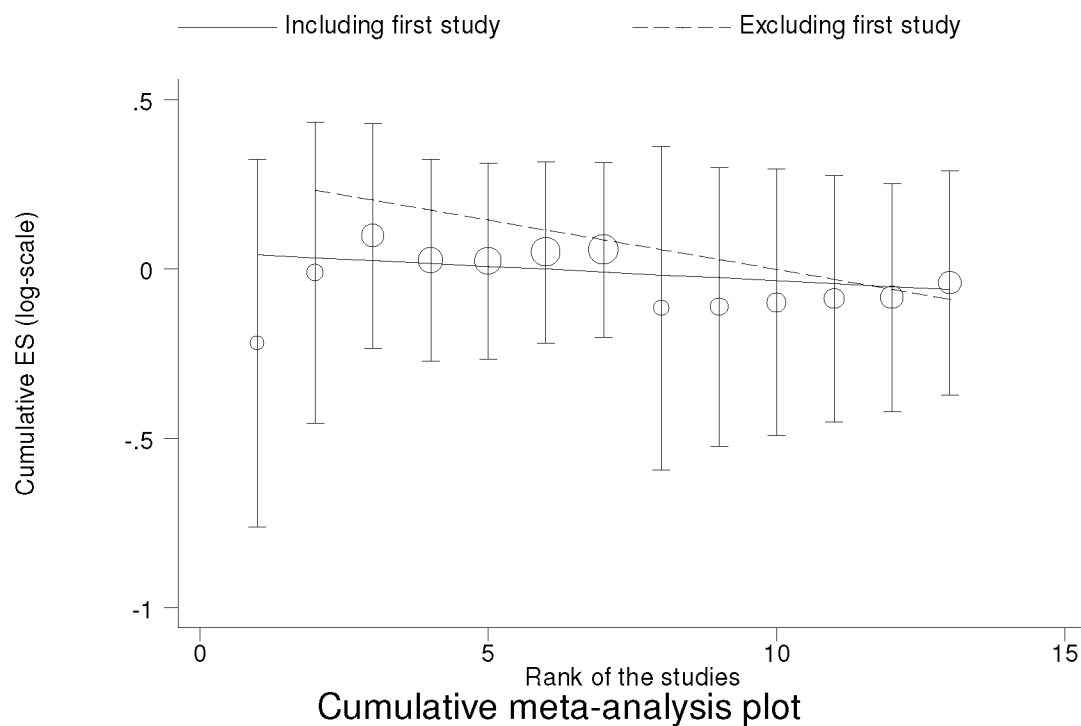
Για την σύγκριση του 4G/5G+5G/5G έναντι του 4G/4G:

```
sort year
metatrend a4 se_dom
```


Πίνακας 166.11: Αποτελέσματα για την ύπαρξη του φαινομένου του Πρωτέα.
Tests for detecting trends in cumulative meta-analysis
Number of studies: 13

'First vs. Subsequent' method				
	Effect Size (ES)	P-value	[95% Conf. Interval]	
First study	0.8034	0.429	0.4669	1.3825
Subsequent studies	0.9791	0.908	0.6831	1.4034
All Studies	0.9602	0.809	0.6905	1.3352
Test for the equality of the ESs				
Ho: ES(first) = ES(subsequent)				
z-value = -0.595				
P-value = 0.552				
Generalized Least Squares (GLS) Regression-based test				
	Coef.	Std. Err.	P-value	[95% Conf. Interval]
rho				
Including all studies	-0.00847	0.00657	0.197	-0.02136 0.00441
0.246				
Excluding first study	-0.02918	0.00626	0.000	-0.04144 -0.01692
0.238				

Παρατηρώντας το p-value υπάρχει φαινόμενο του Πρωτέα (βλέπε πίνακα 6.11 και εικόνα 13) καθώς η τιμή του στη περίπτωση που δεν συμπεριλαμβάνεται η πρώτη μελέτη είναι 0.00 δηλαδή στατιστικώς σημαντική.



Εικόνα 413: Το διάγραμμα την αθροιστικής μέτα-ανάλυσης.

Για την σύγκριση του 4G/5G+4G/4G έναντι του 5G/5G:
metatrend a2 se_res

Πίνακας 6.12: Αποτελέσματα για την ύπαρξη του φαινομένου του Πρωτέα
Tests for detecting trends in cumulative meta-analysis
Number of studies: 13
'First vs. Subsequent' method

	Effect Size (ES)	P-value	[95% Conf. Interval]	
First study	0.6734	0.179	0.3782	1.1993
Subsequent studies	1.0409	0.768	0.7974	1.3588
All Studies	1.0052	0.969	0.7753	1.3032

Test for the equality of the ESs

H₀: ES(first) = ES(subsequent)

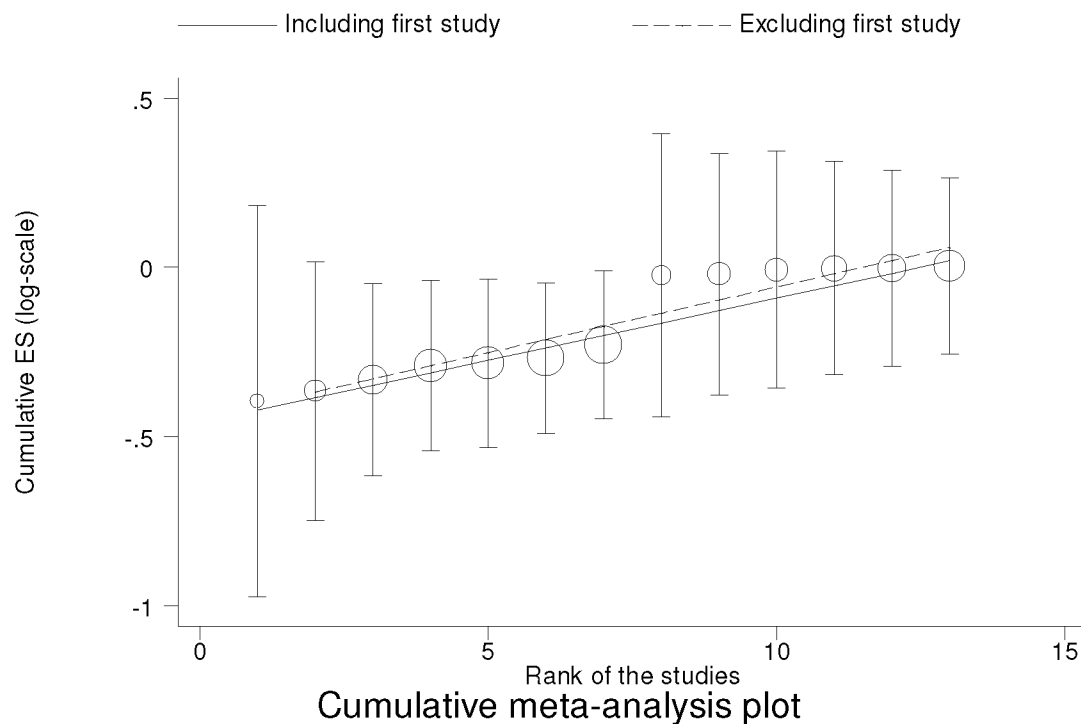
z-value = -1.343

P-value = 0.179

Generalized Least Squares (GLS) Regression-based test

	Coef.	Std. Err.	P-value	[95% Conf. Interval]	
rho					
Including all studies	0.03676	0.00498	0.000	0.02699	0.04653
0.476					
Excluding first study	0.03879	0.00626	0.000	0.02652	0.05107
0.488					

Τα αποτελέσματα για τη περίπτωση αυτή είναι περίπου όμοια με τα παραπάνω. Η τιμή του p-value είναι μηδέν, γεγονός που αποδεικνύει την ύπαρξη του φαινομένου του Πρωτέα (πίνακας 6.12). Αυτό σημαίνει ότι υπάρχει διαχρονική τάση στους εκτιμητές (εικόνα 14).



Εικόνα 14: Το διάγραμμα την αθροιστικής μέτα-ανάλυσης.

Για την σύγκριση του 4G/4G έναντι του 5G/5G:
metatrend a3 se_allele

Πίνακας 6.13: Αποτελέσματα για την ύπαρξη του φαινομένου του Πρωτέα
 Tests for detecting trends in cumulative meta-analysis
 Number of studies: 13
 'First vs. Subsequent' method

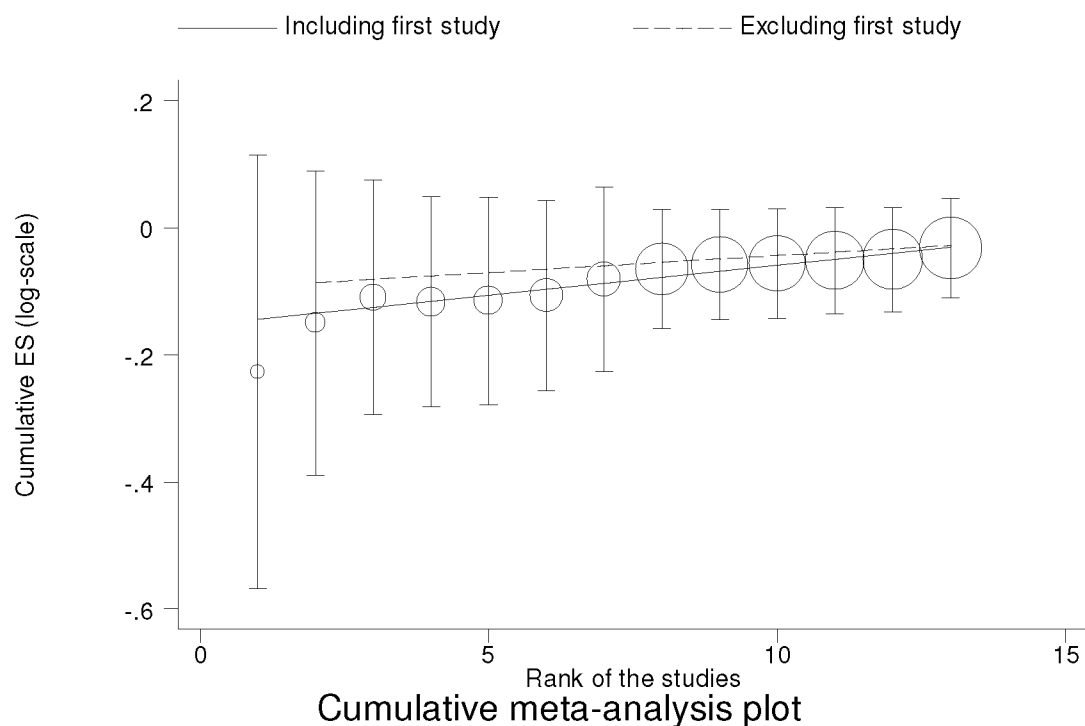
	Effect Size (ES)	P-value	[95% Conf. Interval]	
First study	0.7974	0.194	0.5668	1.1218
Subsequent studies	0.9791	0.606	0.9035	1.0609
All Studies	0.9686	0.424	0.8958	1.0473

Test for the equality of the ESs
 Ho: ES(first) = ES(subsequent)
 z-value = -1.147
 P-value = 0.251

Generalized Least Squares (GLS) Regression-based test

	Coef.	Std. Err.	P-value	[95% Conf. Interval]	
rho					
Including all studies	0.00945	0.00128	0.000	0.00693	0.01197
Excluding first study	0.00534	0.00070	0.000	0.00397	0.00671

Τα αποτελέσματα και σε αυτή τη περίπτωση είναι ίδια με αυτά της σύγκρισης 4G/5G+4G/4G έναντι του 5G/5G (βλέπε πίνακα 6.13 και εικόνα 15).



Εικόνα 15: Το διάγραμμα την αθροιστικής μέτα-ανάλυσης.

6.3) Αποτελέσματα για τη γλυκόζη:

6.3.1) Μέτα-ανάλυση:

Ακολουθούν οι εντολές και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης της γλυκόζης.

Για την σύγκριση του 4G/5G+5G/5G έναντι του 4G/4G:

```
gen b3=xnoa-xaa
gen V33 = (sdnoa)^2/nnoa+ (sdaa)^2/naa
gen se_b3=sqrt(V33)
gen hyper_cat=2 if hypertension==200
replace hyper_cat=0 if hypertension==0
replace hyper_cat=1 if hypertension==100
gen diab_cat=2 if diabetes==200
replace diab_cat=0 if diabetes>=0 &diabetes<=50
replace diab_cat=1 if diabetes==100&diabetes>=50
metan b3 se_b3,randomi label(namevar=author,yearvar=year) by(fyli)
metan b3 se_b3,randomi label(namevar=author,yearvar=year) by(hwe)
metan b3 se_b3,randomi label(namevar=author,yearvar=year)
by(hyper_cat)
metan b3 se_b3,randomi label(namevar=author,yearvar=year)
by(diab_cat)
```

Στην περίπτωση αυτή δεν υπολογίσαμε το OR αλλά τη διαφορά των μέσων τιμών και τη διακύμανση αφού το δεδομένο είναι συνεχές.

Πίνακας 6.14: Αποτελέσματα της μέτα-ανάλυσης με σχέση με τη φυλή.

Study	ES	[95% Conf. Interval]		% Weight	
1					
Kinik ST (2005)	-0.100	-0.396	0.196	14.82	
Testa R (2004)	-0.300	-1.034	0.434	4.50	
Roncal C (2004)	0.740	0.114	1.366	5.82	
Roncal C (2004)	0.290	-0.110	0.690	10.83	
Brown NJ (2001)	-0.040	-0.486	0.406	9.48	
Brown NJ (2001)	-0.580	-1.607	0.447	2.50	
van Harmelen V (2000)	0.460	-3.695	4.615	0.17	
Cesari M (1999)	0.214	-0.135	0.563	12.66	
Rafael Segui (2000)	0.300	0.029	0.571	16.02	
Sub-total					
D+L pooled ES	0.136	-0.055	0.326	76.80	
2					
Kitamura Y (2004)	-0.470	-1.219	0.279	4.34	
Jeng JR (2003)	-0.050	-0.604	0.504	7.01	
Jeng JR (2003)	0.320	-0.100	0.740	10.23	
Sub-total					
D+L pooled ES	0.017	-0.410	0.444	21.57	
3					
Nagi DK (1997)	1.080	-0.215	2.375	1.63	
Sub-total					
D+L pooled ES	1.080	-0.215	2.375	1.63	
Overall					
D+L pooled ES	0.130	-0.040	0.301	100.00	
Test(s) of heterogeneity:					
	Heterogeneity statistic	degrees of freedom	P	I-squared**	Tau-squared
1	12.02	8	0.150	33.5%	0.0257
2	3.54	2	0.171	43.4%	0.0623
3	0.00	0	.	%.%	0.0000
Overall	17.75	12	0.123	32.4%	0.0282

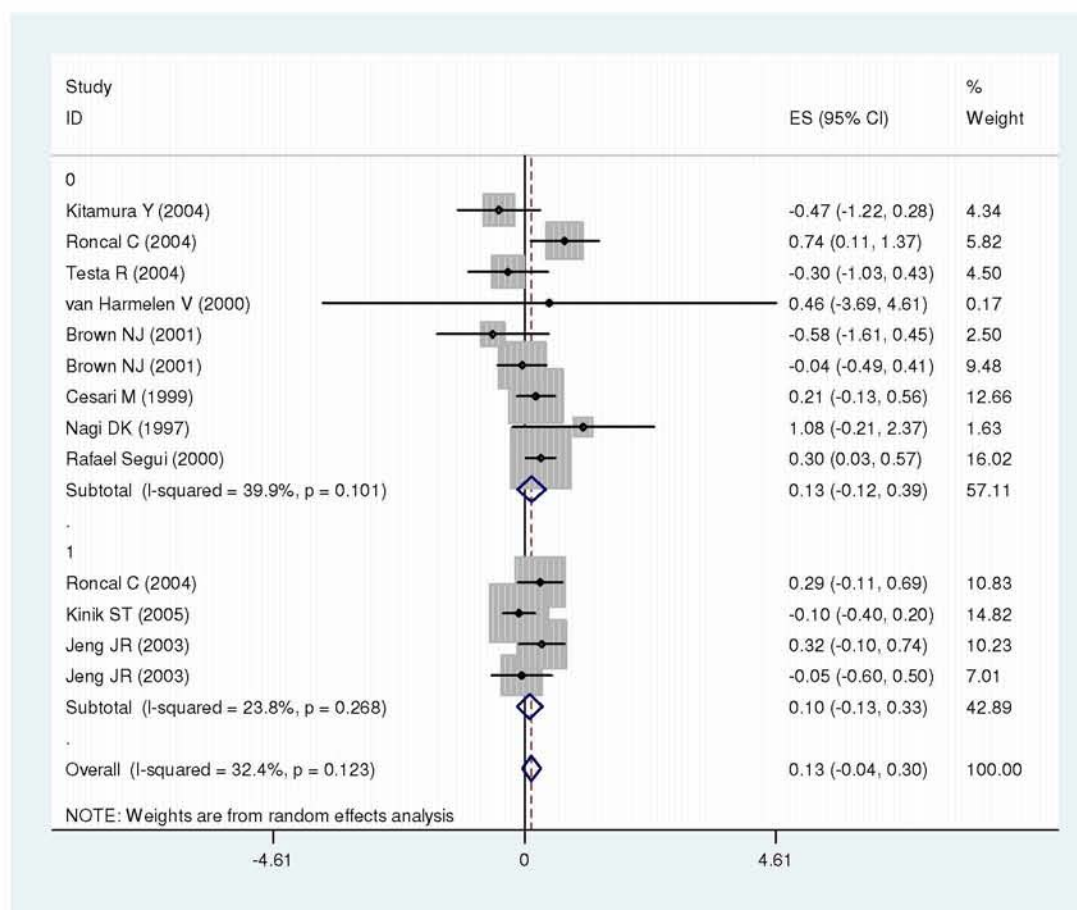
Είναι φανερό πως δεν υπάρχει συσχέτιση αφού το ES είναι 0.130 και στο συνολικό διάστημα εμπιστοσύνης (-0,040 0.301) περιέχεται η τιμή 0 (πίνακας 6.14). Μεταξύ

των μελετών δεν υπάρχει ετερογένεια και αυτό αποδεικνύεται από την τιμή του p-value που είναι μεγαλύτερη από 0.01 αλλά και από το ποσοστό του I^2 που είναι μικρότερο από 50%.

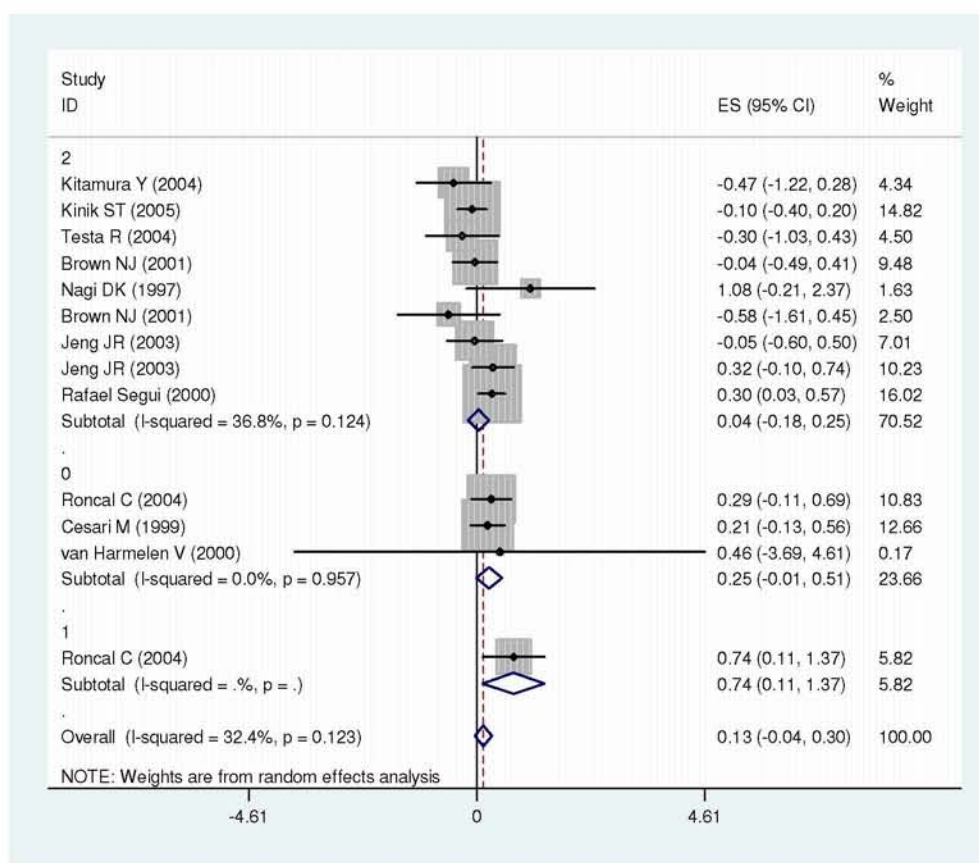
Πίνακας176.15: Αποτελέσματα της μέτα-ανάλυσης με σχέση με την ισορροπία.

Study	ES	[95% Conf. Interval]		% Weight	
-----+-----					
0					
Kitamura Y (2004)	-0.470	-1.219	0.279	4.34	
Roncal C (2004)	0.740	0.114	1.366	5.82	
Testa R (2004)	-0.300	-1.034	0.434	4.50	
van Harmelen V (2000)	0.460	-3.695	4.615	0.17	
Brown NJ (2001)	-0.580	-1.607	0.447	2.50	
Brown NJ (2001)	-0.040	-0.486	0.406	9.48	
Cesari M (1999)	0.214	-0.135	0.563	12.66	
Nagi DK (1997)	1.080	-0.215	2.375	1.63	
Rafael Segui (2000)	0.300	0.029	0.571	16.02	
Sub-total					
D+L pooled ES	0.135	-0.124	0.394	57.11	
-----+-----					
1					
Roncal C (2004)	0.290	-0.110	0.690	10.83	
Kinik ST (2005)	-0.100	-0.396	0.196	14.82	
Jeng JR (2003)	0.320	-0.100	0.740	10.23	
Jeng JR (2003)	-0.050	-0.604	0.504	7.01	
Sub-total					
D+L pooled ES	0.100	-0.128	0.329	42.89	
-----+-----Overall					
D+L pooled ES	0.130	-0.040	0.301	100.00	
-----+-----					
Test(s) of heterogeneity:					
	Heterogeneity statistic	degrees of freedom	P	I-squared**	Tau-squared
0	13.32	8	0.101	39.9%	0.0527
1	3.94	3	0.268	23.8%	0.0131
Overall	17.75	12	0.123	32.4%	0.0282

Ομοίως με τα παραπάνω.



Εικόνα 16:Forest plot της μέτα-ανάλυσης σε σχέση με την ισορροπία.



Εικόνα 17: Forest plot της μέτα-ανάλυσης σε σχέση με τη κατηγορία υπέρτασικών.

Όπως είναι φανερό από την εικόνα 17, δεν υπάρχει συσχέτιση του γονιδίου με την κατηγορία των υπέρτασικών στην οποία ανήκουν τα άτομα. Αυτό αποδεικνύεται από το διάστημα εμπιστοσύνης στο οποίο περιέχεται η τιμή 0. Τα ίδια αποτελέσματα βρέθηκαν και για τη κατηγορία των διαβητικών.

Πίνακας 6.16: Αποτελέσματα της μέτα-ανάλυσης σε σχέση με τη κατηγορία διαβητικών.

Study	ES	[95% Conf. Interval]		% Weight
2				
Kitamura Y (2004)	-0.470	-1.219	0.279	4.34
Kinik ST (2005)	-0.100	-0.396	0.196	14.82
Brown NJ (2001)	-0.040	-0.486	0.406	9.48
Brown NJ (2001)	-0.580	-1.607	0.447	2.50
Jeng JR (2003)	-0.050	-0.604	0.504	7.01
Jeng JR (2003)	0.320	-0.100	0.740	10.23
Rafael Segui (2000)	0.300	0.029	0.571	16.02
Sub-total				
D+L pooled ES	0.038	-0.172	0.248	64.39
0				
Roncal C (2004)	0.290	-0.110	0.690	10.83
Roncal C (2004)	0.740	0.114	1.366	5.82
Cesari M (1999)	0.214	-0.135	0.563	12.66
van Harmelen V (2000)	0.460	-3.695	4.615	0.17
Sub-total				
D+L pooled ES	0.321	0.079	0.563	29.48
1				
Testa R (2004)	-0.300	-1.034	0.434	4.50
Naqi DK (1997)	1.080	-0.215	2.375	1.63

Sub-total					
D+L pooled ES		0.283	-1.053	1.619	6.13

Overall					
D+L pooled ES		0.130	-0.040	0.301	100.00

Test(s) of heterogeneity:					
	Heterogeneity statistic	degrees of freedom	P	I-squared**	Tau-squared
2	9.35	6	0.155	35.8%	0.0269
0	2.11	3	0.549	0.0%	0.0000
1	3.30	1	0.069	69.7%	0.6638
Overall	17.75	12	0.123	32.4%	0.0282

Για την σύγκριση του 4G/5G+4G/4G έναντι του 5G/5G:

```
gen b4=xnob-xbb
gen V44 = (sbnob)^2/nnob+ (sdbb)^2/nbb
gen se_b4=sqrt(V44)
metan b4 se_b4,randomi label(namevar=author,yearvar=year) by(fyli)
metan b4 se_b4,randomi label(namevar=author,yearvar=year) by(hwe)
```

Πίνακας6.17: Αποτελέσματα της μέτα-ανάλυσης με σχέση με τη φυλή.

Study		ES	[95% Conf. Interval]	% Weight	

1					
Lopez-Bermejo A (200		0.000	-0.200	0.200	16.15
Kinik ST (2005)		0.000	-0.188	0.188	18.30
Testa R (2004)		-0.270	-0.865	0.325	1.83
Roncal C (2004)		-0.440	-1.766	0.886	0.37
Lopes C (2003)		-0.200	-0.372	-0.028	21.80
Lopes C (2003)		0.020	-0.174	0.214	17.26
Brown NJ (2001)		-0.425	-0.852	0.002	3.56
Brown NJ (2001)		-0.600	-1.622	0.422	0.62
van Harmelen V (2000		-0.050	-5.578	5.478	0.02
Cesari M (1999)		0.174	-0.218	0.566	4.21
Rafael Segui (2000)		-0.130	-0.443	0.183	6.61
Sub-total					
D+L pooled ES		-0.074	-0.159	0.011	90.73

2					
Kitamura Y (2004)		-0.030	-0.384	0.324	5.16
Jeng JR (2003)		-0.500	-1.140	0.140	1.58
Jeng JR (2003)		-0.280	-0.810	0.250	2.31
Sub-total					
D+L pooled ES		-0.176	-0.444	0.092	9.05

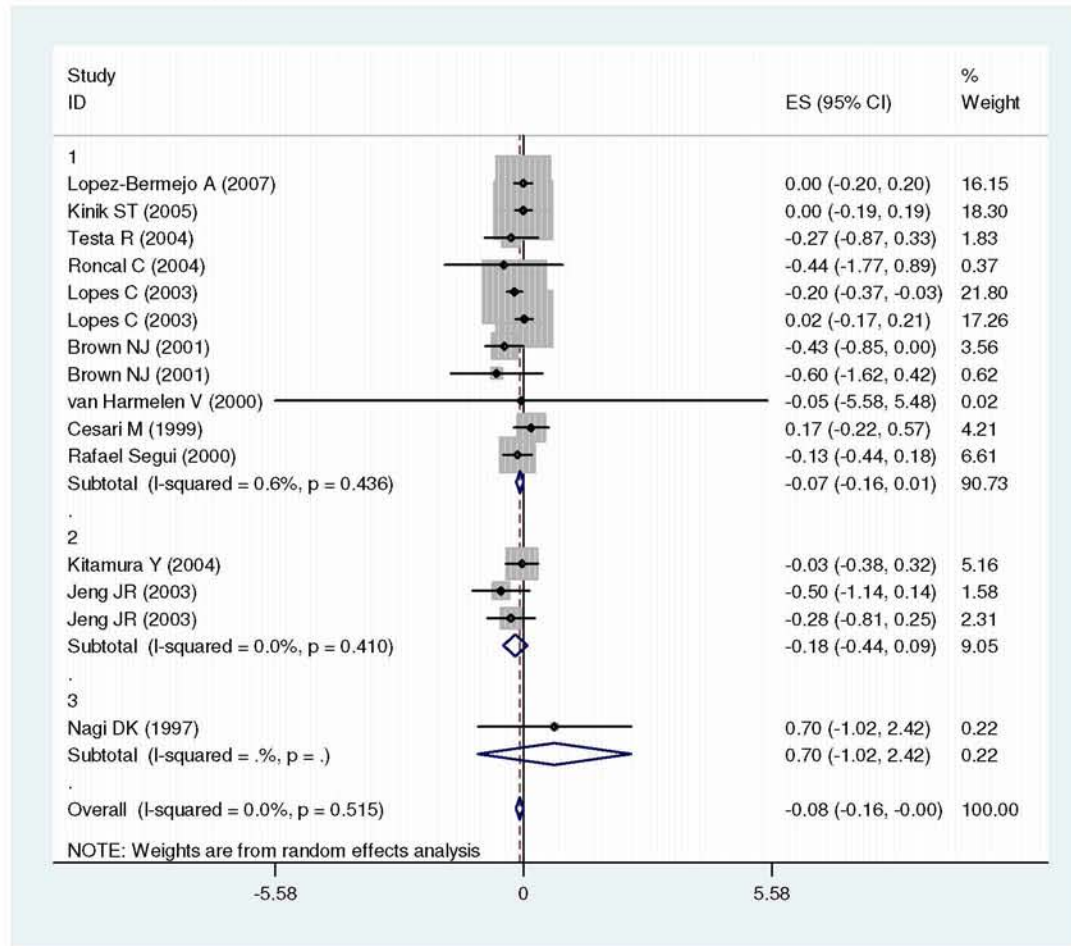
3					
Nagi DK (1997)		0.700	-1.020	2.420	0.22
Sub-total					
D+L pooled ES		0.700	-1.020	2.420	0.22

Overall					
D+L pooled ES		-0.081	-0.162	-0.001	100.00

Test(s) of heterogeneity:					
		Heterogeneity	degrees of		
		statistic	freedom	P	I-squared**
					Tau-squared
1		10.06	10	0.436	0.6%
2		1.79	2	0.410	0.0%
3		0.00	0	.	.%
Overall		13.15	14	0.515	0.0%

Παραπάνω βλέπουμε ότι υπάρχει συσχέτιση της γλυκόζης με το γονίδιο επειδή στο διάστημα εμπιστοσύνης (-0.081 -0.162) δε περιέχεται η τιμή 0. Αυτό σημαίνει ότι για

το σύνολο όλων των πληθυσμών οι οποίοι φέρουν το 5G/5G αλληλόμορφο συσχετίζονται με τα αυξημένα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα τους σε σχέση με αυτούς που φέρουν 4G/5G+4G/4G. Η εξέταση της ετερογένειας δείχνει ότι δεν υπάρχει ετερογένεια μεταξύ των μελετών με p-value μεγαλύτερο από 0.01 και I^2 I-squared να είναι μηδενικό.



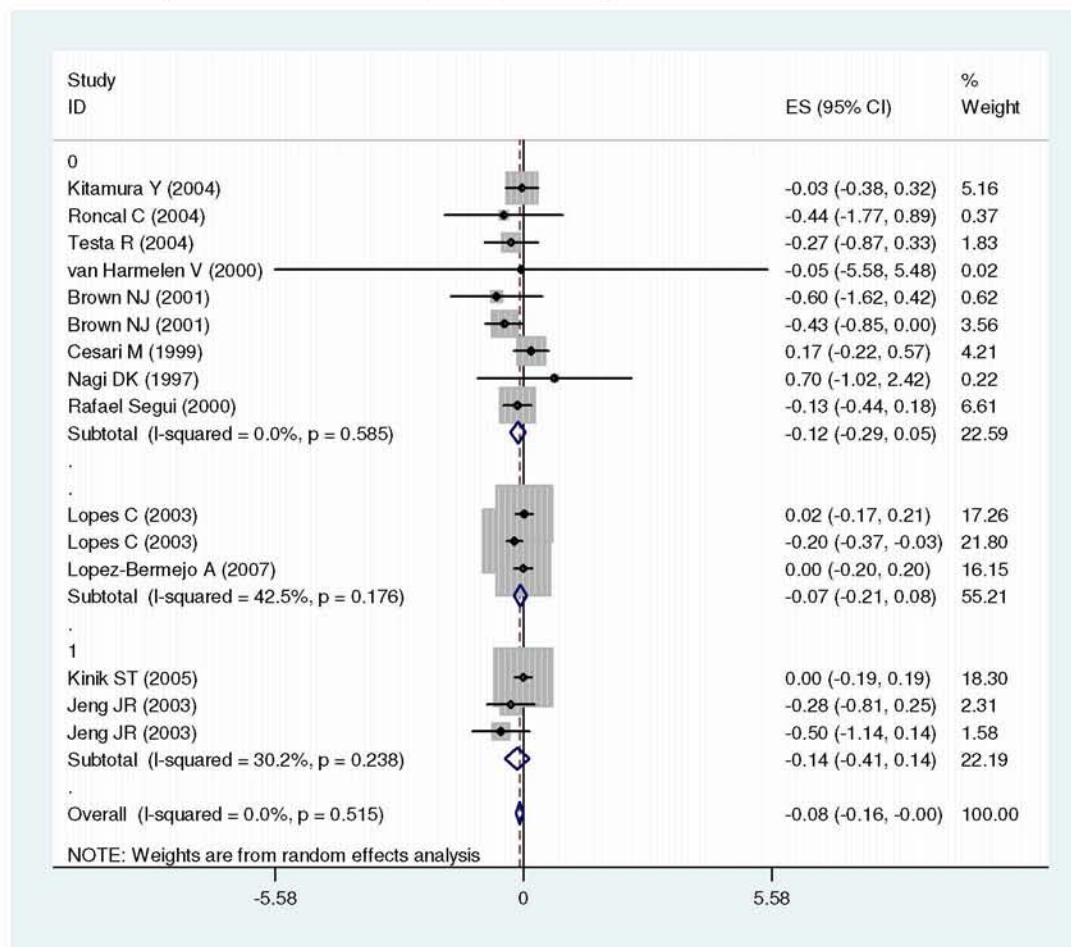
Εικόνα 518: Forest plot της μέτα-ανάλυσης σε σχέση με τη φυλή.

Πίνακας6.18: Αποτελέσματα της μέτα-ανάλυσης με σχέση με την ισορροπία.

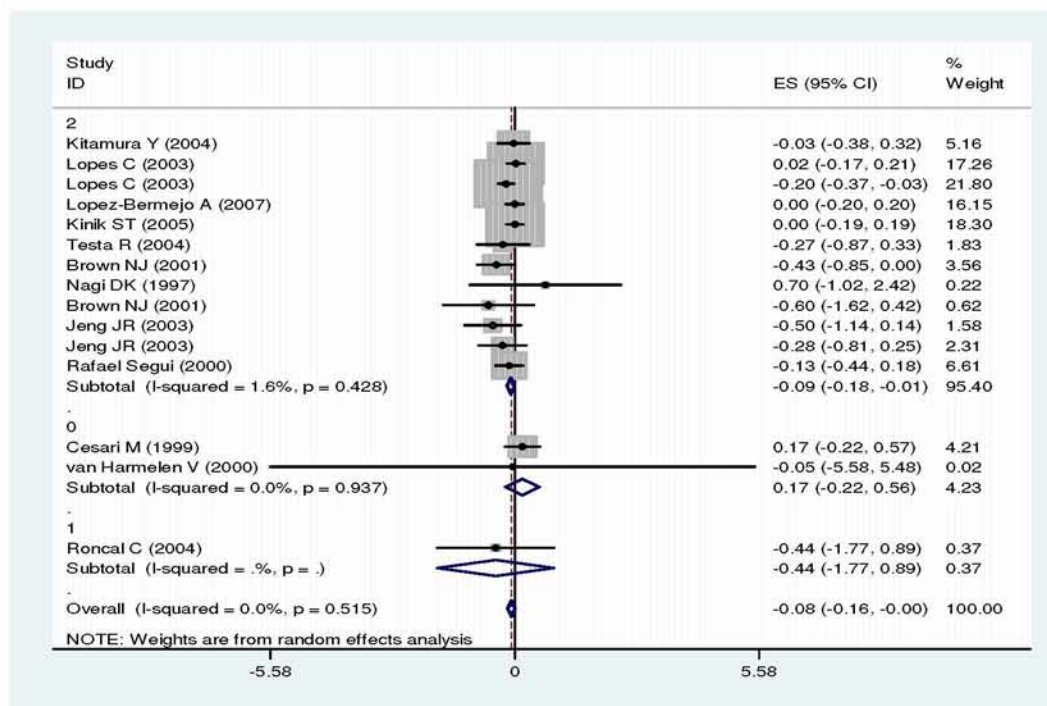
Study	ES	[95% Conf. Interval]		% Weight
-----+-----				
0				
Kitamura Y (2004)	-0.030	-0.384	0.324	5.16
Roncal C (2004)	-0.440	-1.766	0.886	0.37
Testa R (2004)	-0.270	-0.865	0.325	1.83
van Harmelen V (2000)	-0.050	-5.578	5.478	0.02
Brown NJ (2001)	-0.600	-1.622	0.422	0.62
Brown NJ (2001)	-0.425	-0.852	0.002	3.56
Cesari M (1999)	0.174	-0.218	0.566	4.21
Nagi DK (1997)	0.700	-1.020	2.420	0.22
Rafael Segui (2000)	-0.130	-0.443	0.183	6.61
Sub-total				
D+L pooled ES	-0.118	-0.287	0.051	22.59
-----+-----				
1				
Lopes C (2003)	0.020	-0.174	0.214	17.26
Lopes C (2003)	-0.200	-0.372	-0.028	21.80
Lopez-Bermejo A (2000)	0.000	-0.200	0.200	16.15

Sub-total					
D+L pooled ES		-0.067	-0.211	0.076	55.21
<hr/>					
1					
Kinik ST (2005)		0.000	-0.188	0.188	18.30
Jeng JR (2003)		-0.280	-0.810	0.250	2.31
Jeng JR (2003)		-0.500	-1.140	0.140	1.58
Sub-total					
D+L pooled ES		-0.135	-0.410	0.140	22.19
<hr/>					
Overall					
D+L pooled ES		-0.081	-0.162	-0.001	100.00
<hr/>					

Τα αποτελέσματα και εδώ είναι όμοια με τα παραπάνω.



Εικόνα 19: Forest plot της μέτα-ανάλυσης σε σχέση με την ισορροπία.



Εικόνα 20: Forest plot της μέτα-ανάλυσης σε σχέση με τη κατηγορία υπέρτασικών.

Στην εικόνα 20, παρατηρούμε ότι υπάρχει συσχέτιση του γονιδίου με τη κατηγορία των υπέρτασικών στην οποία ανήκουν τα άτομα. Αυτό αποδεικνύεται από το διάστημα εμπιστοσύνης στο οποίο δεν περιέχεται η τιμή 0. Τα ίδια αποτελέσματα βρεθήκαν και για τη κατηγορία των διαβητικών.

Πίνακας 6.19:18 Αποτελέσματα της μέτα-ανάλυσης με σχέση τη κατηγορία διαβητικών.

Study	ES	[95% Conf. Interval]	% Weight
2			
Kitamura Y (2004)	-0.030	-0.384 0.324	5.16
Lopez-Bermejo A (2007)	0.000	-0.200 0.200	16.15
Kinik ST (2005)	0.000	-0.188 0.188	18.30
Brown NJ (2001)	-0.425	-0.852 0.002	3.56
Brown NJ (2001)	-0.600	-1.622 0.422	0.62
Jeng JR (2003)	-0.500	-1.140 0.140	1.58
Jeng JR (2003)	-0.280	-0.810 0.250	2.31
Rafael Segui (2000)	-0.130	-0.443 0.183	6.61
Sub-total			
D+L pooled ES	-0.083	-0.195 0.029	54.29
0			
Lopes C (2003)	0.020	-0.174 0.214	17.26
Lopes C (2003)	-0.200	-0.372 -0.028	21.80
Roncal C (2004)	-0.440	-1.766 0.886	0.37
Cesari M (1999)	0.174	-0.218 0.566	4.21
van Harmelen V (2000)	-0.050	-5.578 5.478	0.02
Sub-total			
D+L pooled ES	-0.067	-0.217 0.084	43.66
1			
Testa R (2004)	-0.270	-0.865 0.325	1.83
Nagi DK (1997)	0.700	-1.020 2.420	0.22
Sub-total			
D+L pooled ES	-0.134	-0.794 0.525	2.05
Overall			
D+L pooled ES	-0.081	-0.162 -0.001	100.00

-----+-----					
Test(s) of heterogeneity:					
	Heterogeneity statistic	degrees of freedom	P	I-squared**	Tau-squared
2	7.19	7	0.410	2.6%	0.0008
0	4.78	4	0.311	16.3%	0.0051
1	1.09	1	0.296	8.4%	0.0394
Overall	13.15	14	0.515	0.0%	0.0000

6.3.2) Αποτελέσματα για το σφάλμα δημοσίευσης:

Για την σύγκριση του 4G/5G+5G/5G έναντι του 4G/4G:

metabias b3 se_b3, graph(begg)

Πίνακας 6.20: Αποτελέσματα για την ύπαρξη σφάλματος δημοσίευσης.

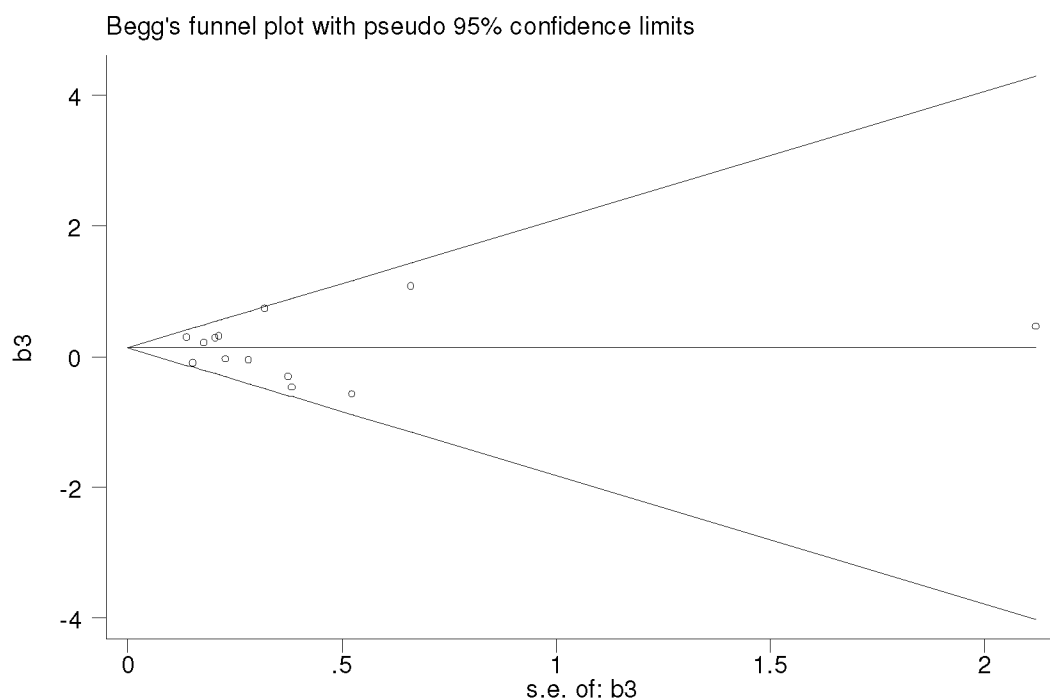
Tests for Publication Bias

Begg's Test

adj. Kendall's Score (P-Q) = -6
 Std. Dev. of Score = 16.39
 Number of Studies = 13
 z = -0.37
 Pr > |z| = 0.714
 z = 0.31 (continuity corrected)
 Pr > |z| = 0.760 (continuity corrected)

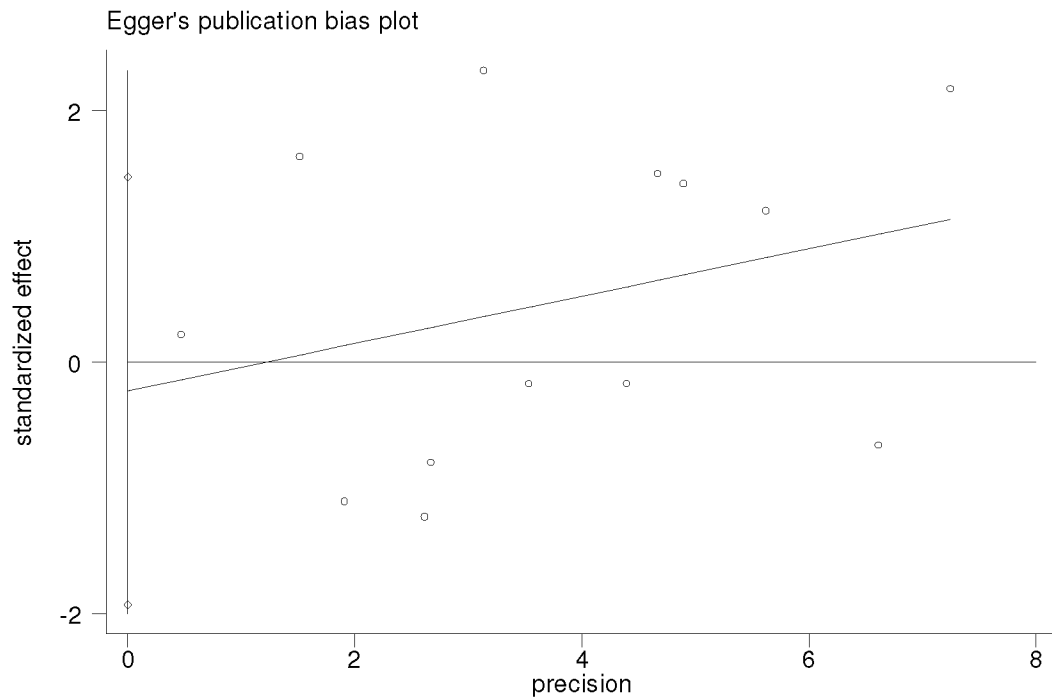
Egger's test

	Std_Eff	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
slope	.1880645	.1817263	1.03	0.323	-.2119123	.5880413
bias	-.227726	.7733191	-0.29	0.774	-1.92979	1.474338



Εικόνα 21: Γράφημα του Begg.

Από το πίνακα 6.20 και από τα γραφήματα (εικόνες 21 και 22), μπορούμε να συμπεράνουμε ότι δεν υπάρχει συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης αφού τα p-value είναι μεγαλύτερα από 0.05 .



Εικόνα 22: Γράφημα του Egger.

Για την σύγκριση του 4G/5G+4G/4G έναντι του 5G/5G:
metabias b4 se_b4, graph(begg)

Πίνακας 6.21: Αποτελέσματα για την ύπαρξη σφάλματος δημοσίευσης.

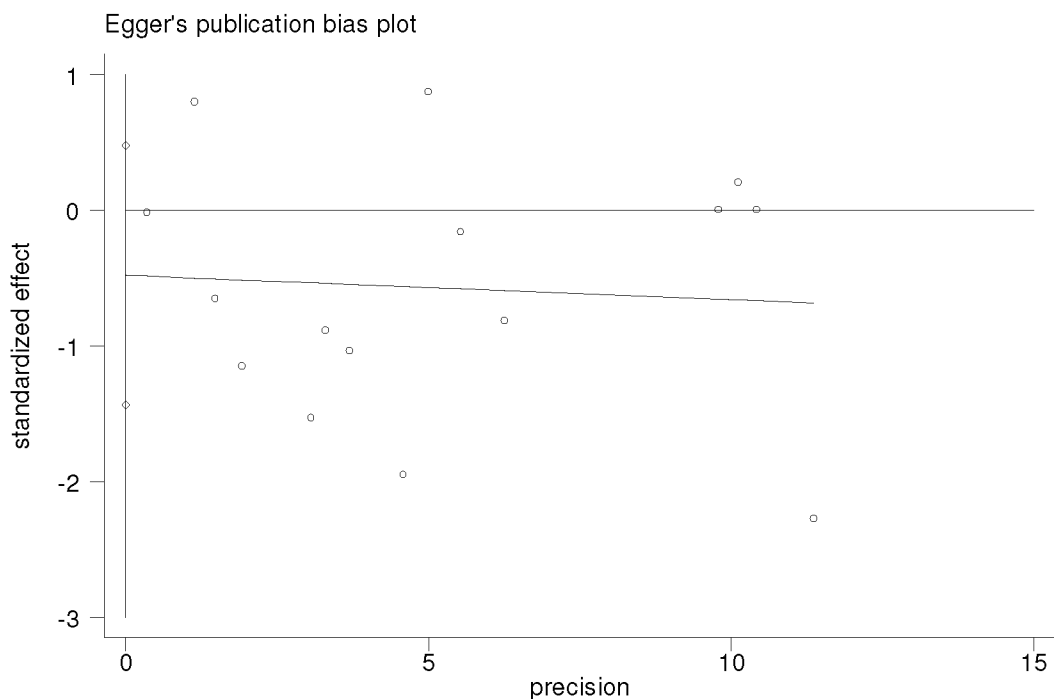
Tests for Publication Bias

Begg's Test

```
adj. Kendall's Score (P-Q) =      -11
Std. Dev. of Score =      20.21
Number of Studies =         15
z =      -0.54
Pr > |z| =      0.586
z =      0.49 (continuity corrected)
Pr > |z| =      0.621 (continuity corrected)
```

Egger's test

	Std_Eff	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
slope	.1341312	-.0179545	.070398	-0.26	0.803	-.1700401
bias	.4753804	-.4806283	.4425211	-1.09	0.297	-1.436637



Εικόνα 23:Γράφημα του Egger.

Όμοίως με τα αποτελέσματα της παραπάνω σύμπτυξης.

6.3.3)Αποτελέσματα για την ύπαρξη του φαινομένου του Πρωτέα.

Για την σύγκριση του 4G/5G+5G/5G έναντι του 4G/4G:

metatrend b3 se_b3

Πίνακας6.22:Αποτελέσματα για την ύπαρξη του φαινομένου του Πρωτέα.

Tests for detecting trends in cumulative meta-analysis

Number of studies: 13

'First vs. Subsequent' method

	Effect Size (ES)	P-value	[95% Conf. Interval]	
First study	2.9447	0.102	0.8066	10.7501
Subsequent studies	1.1238	0.168	0.9521	1.3266
All Studies	1.1391	0.135	0.9604	1.3510

Test for the equality of the ESs

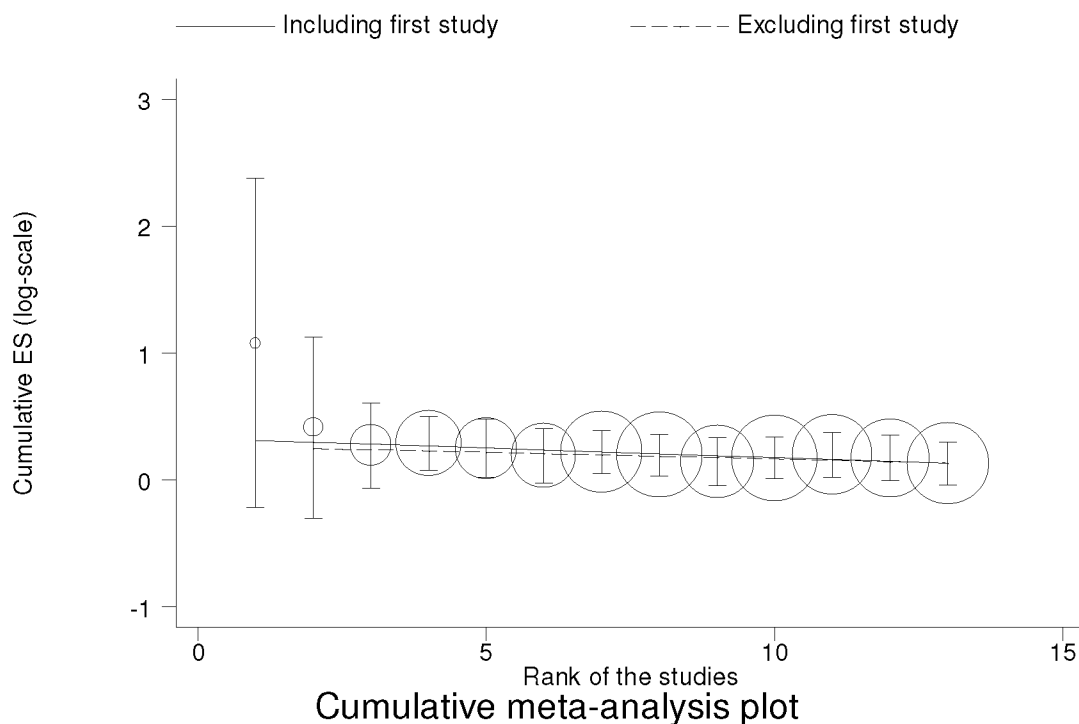
Ho: ES(first) = ES(subsequent)

z-value = 1.446

P-value = 0.148

Generalized Least Squares (GLS) Regression-based test

	Coef.	Std. Err.	P-value	[95% Conf. Interval]	
rho					
Including all studies	-0.01497	0.00476	0.002	-0.02430	-0.00563
0.236					
Excluding first study	-0.01022	0.00220	0.000	-0.01453	-0.00591
-0.000					



Εικόνα 24: Το διάγραμμα της αθροιστικής μέτα-ανάλυσης.

Από τα παραπάνω (πίνακας 6.22 και εικόνα 24) μπορούμε να αποφανθούμε ότι υπάρχει φαινόμενο του Πρωτέα καθώς το p-value είναι μηδενικό. Στο διάγραμμα φαίνεται η διαχρονική τάση (trend) στους εκτιμητές (εικόνα 24).

Για την σύγκριση του 4G/5G+4G/4G έναντι του 5G/5G:

metatrend b4 se_b4

Πίνακας196.23: Αποτελέσματα για την ύπαρξη του φαινομένου του Πρωτέα.

Tests for detecting trends in cumulative meta-analysis

Number of studies: 15

'First vs. Subsequent' method

	Effect Size (ES)	P-value	[95% Conf. Interval]	
First study	2.0138	0.425	0.3607	11.2433
Subsequent studies	0.9204	0.044	0.8492	0.9977
All Studies	0.9220	0.048	0.8507	0.9993

Test for the equality of the ESs

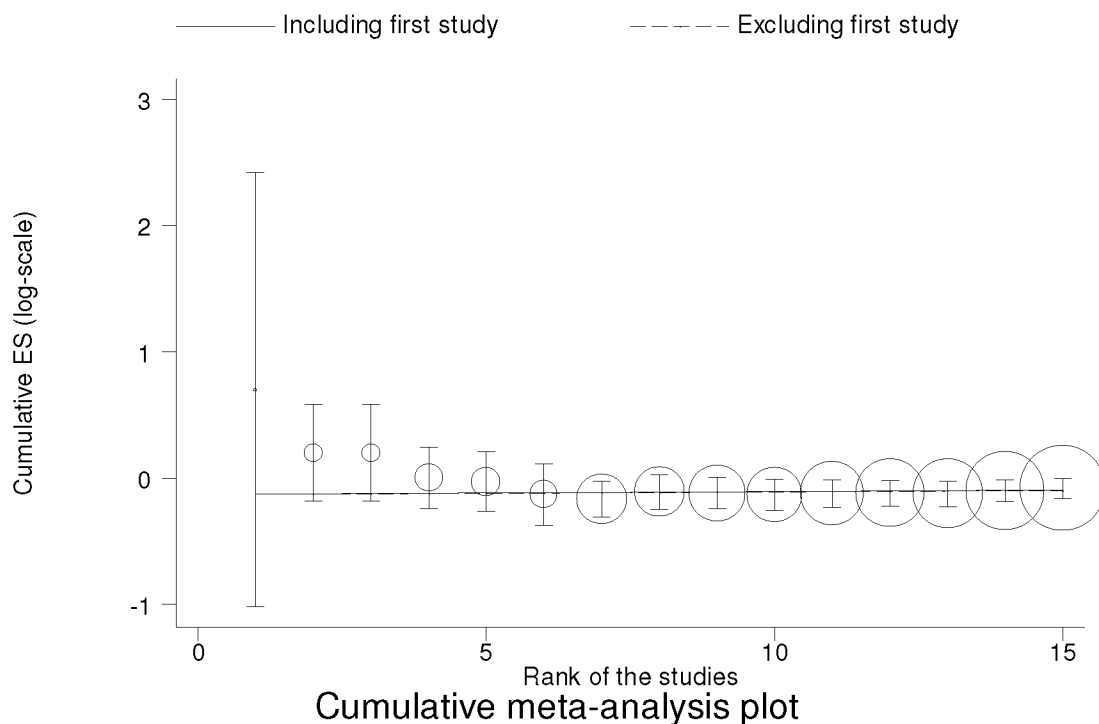
Ho: ES(first) = ES(subsequent)

z-value = 0.891

P-value = 0.373

Generalized Least Squares (GLS) Regression-based test

	Coef.	Std. Err.	P-value	[95% Conf. Interval]	
rho					
Including all studies	0.00231	0.00546	0.673	-0.00840	0.01302
0.755					
Excluding first study	0.00210	0.00515	0.683	-0.00799	0.01220
0.654					



Εικόνα 25: Το διάγραμμα της αθροιστικής μέτα-ανάλυσης.

Αντίθετα με τα παραπάνω ευρήματα, στη συγκεκριμένη περίπτωση δεν εντοπίστηκε το φαινόμενο του Πρωτέα, καθώς το p-value έχει τιμή μεγαλύτερη από 0.05.

6.4)Αποτελέσματα για την ινσουλίνη:

6.4.1)Μέτα-ανάλυση:

Για την σύγκριση του 4G/5G+5G/5G έναντι του 4G/4G:

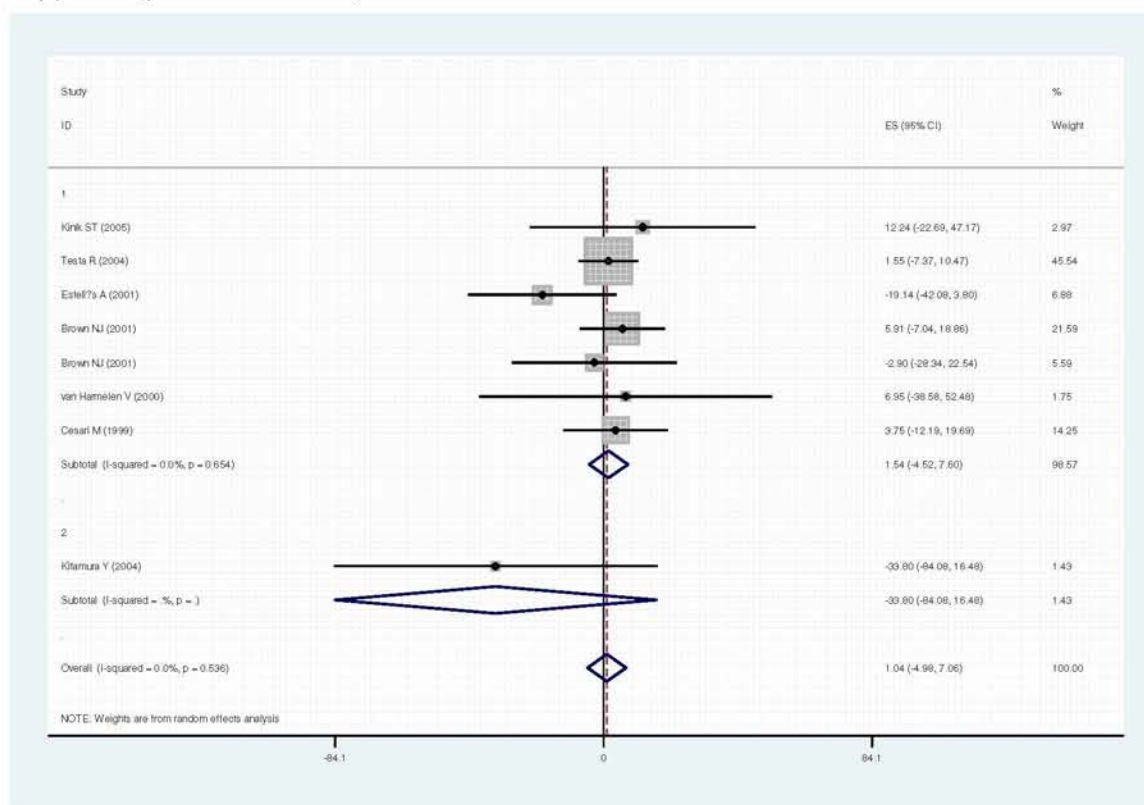
```
gen b3=xnoa-xaa
gen V33 = (sdnoa)^2/nnoa+ (sdaa)^2/naa
gen se_b3=sqrt(V33)
metan b3 se_b3,randomi label(namevar=author,yearvar=year) by(fyli)
metan b3 se_b3,randomi label(namevar=author,yearvar=year) by(hwe)
gen hyper_cat=2 if hypertension==200
replace hyper_cat=0 if hypertension!=200&hypertension>=0
gen diab_cat=2 if diabetes==200
replace diab_cat=1 if diabetes==100
replace diab_cat=0 if diabetes==0
metan b3 se_b3,randomi label(namevar=author,yearvar=year)
by(hyper_cat)
metan b3 se_b3,randomi label(namevar=author,yearvar=year)
by(diab_cat)
```

Πίνακας6.24: Αποτελέσματα μέτα-ανάλυσης σε σχέση με τη φυλή.

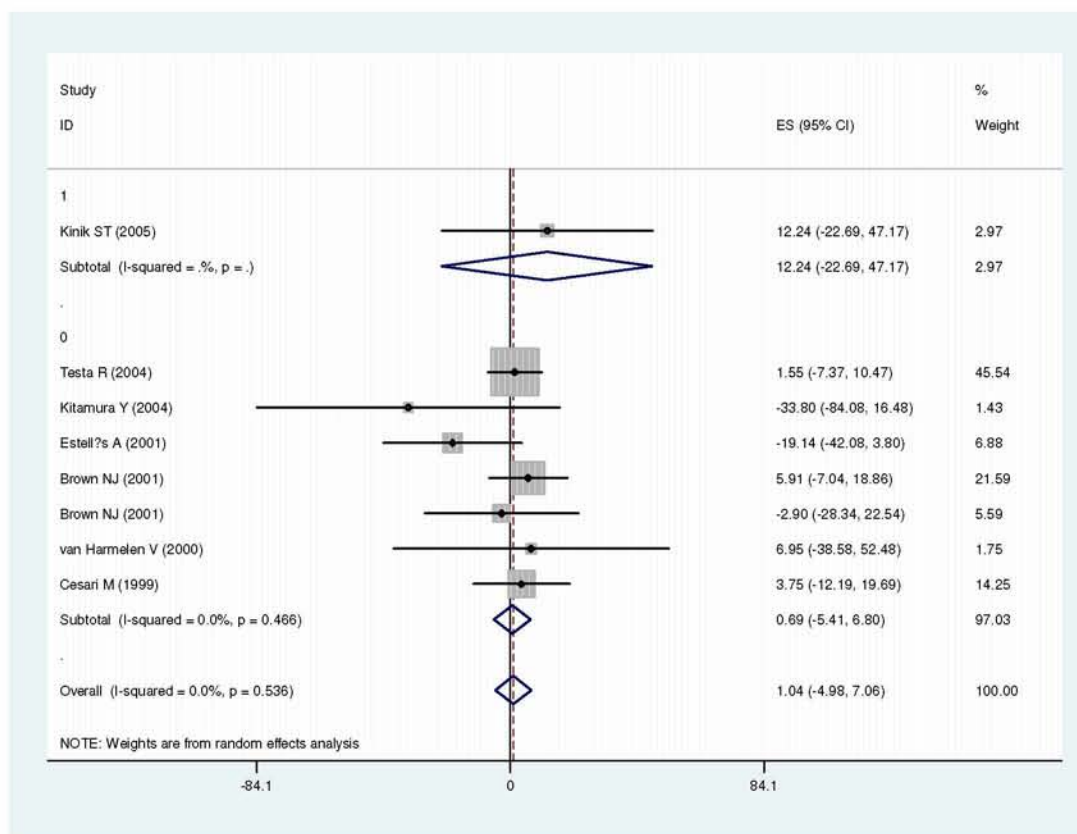
Study	ES	[95% Conf. Interval]	% Weight
1			
Kinik ST (2005)	12.240	-22.689	47.169
Testa R (2004)	1.550	-7.367	10.467
Estell?s A (2001)	-19.140	-42.081	3.801
Brown NJ (2001)	5.910	-7.042	18.862
Brown NJ (2001)	-2.900	-28.343	22.543
van Harmelen V (2000)	6.950	-38.584	52.484
Cesari M (1999)	3.750	-12.191	19.691

Sub-total					
D+L pooled ES		1.544	-4.518	7.605	98.57
<hr/>					
2					
Kitamura Y (2004)		-33.800	-84.077	16.477	1.43
Sub-total					
D+L pooled ES		-33.800	-84.077	16.477	1.43
<hr/>					
Overall					
D+L pooled ES		1.037	-4.980	7.055	100.00
<hr/>					
Test(s) of heterogeneity:					
	Heterogeneity statistic	degrees of freedom	P	I-squared**	Tau-squared
1	4.16	6	0.654	0.0%	0.0000
2	0.00	0	.	0.0%	0.0000
Overall	6.04	7	0.536	0.0%	0.0000

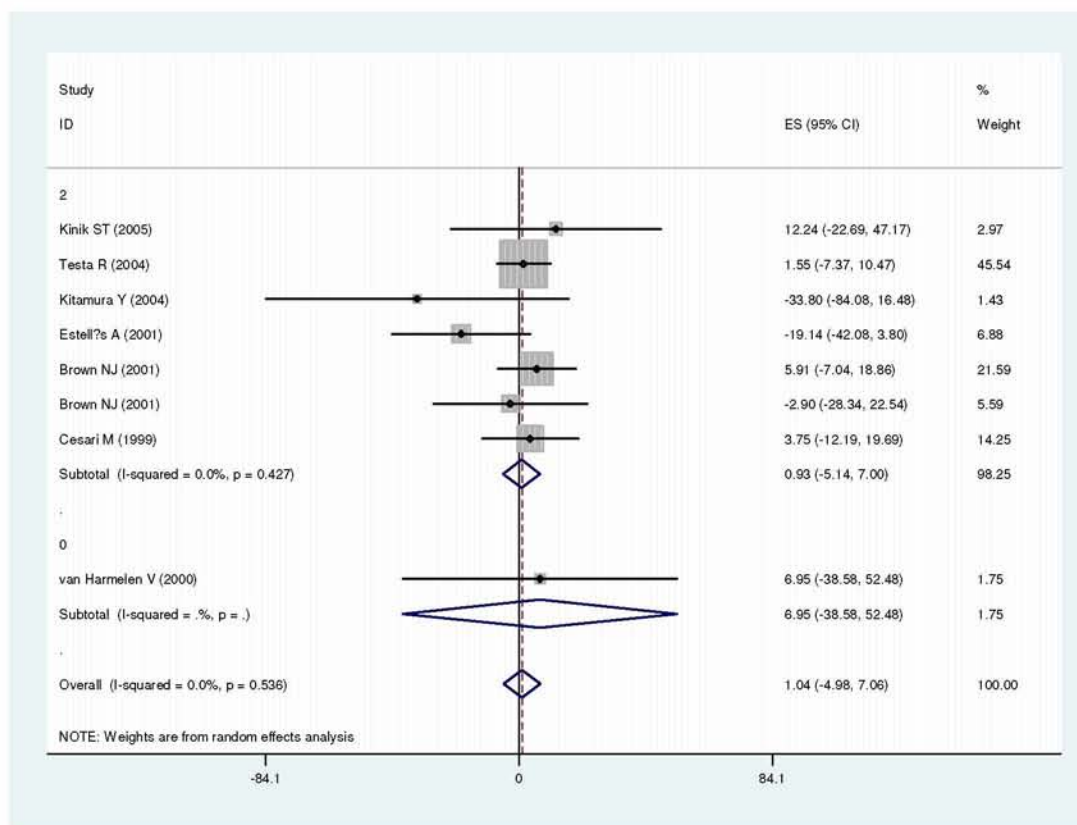
Στην περίπτωση αυτή δεν υπάρχει συσχέτιση γιατί στο συνολικό διάστημα εμπιστοσύνης περιλαμβάνεται η τιμή 0. Από την εξέταση της ετερογένειας προέκυψε ότι δεν υπάρχει ετερογένεια με p-value μεγαλύτερο από 0.05 και I-squared μηδενικό. Τα ίδια αποτελέσματα ισχύουν και για τη μέτα-ανάλυση σε σχέση με τη ισορροπία (βλέπε εικόνα 27).



Εικόνα 26: forest plot της μέτα-ανάλυσης σε σχέση με τη φυλή.



Εικόνα 27: Αποτέλεσμα της μέτα-ανάλυσης σε σχέση με την ισορροπία.



Εικόνα 28: Αποτέλεσμα της μέτα-ανάλυσης σε σχέση με τη κατηγορία υπέρτασικών.

Στις μέτα-αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν σε σχέση με τη κατηγορία υπερτασικών και διαβητικών δεν βρέθηκε συσχέτιση του γονιδίου με την ινσουλίνη (βλέπε εικόνα 29 & πίνακα 6.25). Τα αποτελέσματα για την ετερογένεια είναι ίδια και για τις δύο μέτα-αναλύσεις. Πιο συγκεκριμένα, λόγω της τιμής του p-value που είναι μεγαλύτερο από 0.05 και του I-squared που είναι μικρότερο από 50%, δεν υπάρχει ετερογένεια.

Πίνακας 206.25: Πίνακας της μέτα-ανάλυσης σε σχέση με τη κατηγορία διαβητικών.

Study	ES	[95% Conf. Interval]	% Weight		
-----+-----					
2					
Kinik ST (2005)	12.240	-22.689	47.169	2.97	
Kitamura Y (2004)	-33.800	-84.077	16.477	1.43	
Estell's A (2001)	-19.140	-42.081	3.801	6.88	
Brown NJ (2001)	5.910	-7.042	18.862	21.59	
Brown NJ (2001)	-2.900	-28.343	22.543	5.59	
Cesari M (1999)	3.750	-12.191	19.691	14.25	
Sub-total					
D+L pooled ES	-0.422	-9.976	9.132	52.71	
-----+-----					
1					
Testa R (2004)	1.550	-7.367	10.467	45.54	
Sub-total					
D+L pooled ES	1.550	-7.367	10.467	45.54	
-----+-----					
0					
van Harmelen V (2000)	6.950	-38.584	52.484	1.75	
Sub-total					
D+L pooled ES	6.950	-38.584	52.484	1.75	
-----+-----					
Overall					
D+L pooled ES	1.037	-4.980	7.055	100.00	
-----+-----					
Test(s) of heterogeneity:					
	Heterogeneity statistic	degrees of freedom	P	I-squared**	Tau-squared
2	5.94	5	0.313	15.8%	23.0075
1	0.00	0	.	.%	0.0000
0	0.00	0	.	.%	0.0000
Overall	6.04	7	0.536	0.0%	0.0000

Για την σύγκριση του 4G/5G+4G/4G έναντι του 5G/5G:

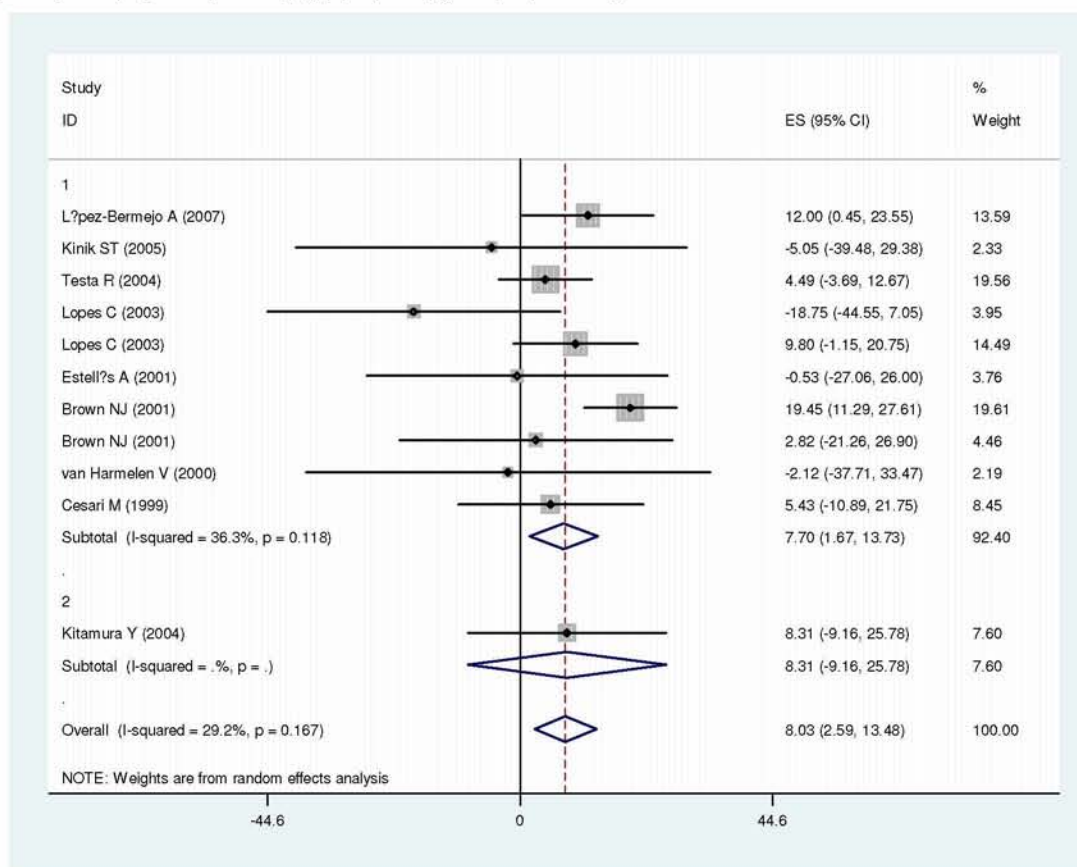
```
gen b4=xnob-xbb
gen V44 = (sdnob)^2/nnob+ (sdbb)^2/nbb
gen se_b4=sqrt(V44)
metan b4 se_b4,randomi label(namevar=author,yearvar=year) by(fyli)
metan b4 se_b4,randomi label(namevar=author,yearvar=year) by(hwe)
metan b4 se_b4,randomi label(namevar=author,yearvar=year)
by(hyper_cat)
metan b3 se_b3,randomi label(namevar=author,yearvar=year)
by(diab_cat)
```

Πίνακας 6.26: Αποτελέσματα μέτα-ανάλυσης σε σχέση με τη φυλή.

Study	ES	[95% Conf. Interval]	% Weight
-----+-----			
1			
L?pez-Bermejo A (200	12.000	0.447	23.553
Kinik ST (2005)	-5.050	-39.478	29.378
Testa R (2004)	4.490	-3.691	12.671
Lopes C (2003)	-18.750	-44.551	7.051
Lopes C (2003)	9.800	-1.154	20.754
Estell?s A (2001)	-0.530	-27.065	26.005

Brown NJ (2001)		19.450	11.293	27.607	19.61
Brown NJ (2001)		2.820	-21.257	26.897	4.46
van Harmelen V (2000)		-2.120	-37.709	33.469	2.19
Cesari M (1999)		5.430	-10.886	21.746	8.45
Sub-total					
D+L pooled ES		7.698	1.670	13.726	92.40
<hr/>					
2					
Kitamura Y (2004)		8.310	-9.161	25.781	7.60
Sub-total					
D+L pooled ES		8.310	-9.161	25.781	7.60
<hr/>					
Overall					
D+L pooled ES		8.035	2.590	13.479	100.00
<hr/>					
Test(s) of heterogeneity:					
		Heterogeneity statistic	degrees of freedom	P	I-squared**
1		14.12	9	0.118	36.3%
2		0.00	0	.	0.0000
Overall		14.13	10	0.167	29.2%
Tau-squared					
					22.0242

Στην περίπτωση αυτή (πίνακας 6.26 και εικόνα 30) υπάρχει συσχέτιση γιατί στο συνολικό διάστημα εμπιστοσύνης δεν περιλαμβάνεται η τιμή 0. Αυτό σημαίνει ότι τα άτομα που φέρουν το αλληλόμορφο 5G συσχετίζονται με τα επίπεδα της ινσουλίνης. Από την εξέταση της ετερογένειας προέκυψε ότι δεν υπάρχει μεγάλη ετερογένεια με p-value κοντά στο 0.1 και I-squared μικρότερο από 50%. Τα ίδια αποτελέσματα βρεθήκαν και στη μέτα-ανάλυση σε σχέση με την ισορροπία (βλέπε πίνακα 6.27) με μόνη διαφορά την ύπαρξη μεγάλης ετερογένειας



Εικόνα 29: Αποτέλεσμα της μέτα-ανάλυσης σε σχέση με τη φυλή.

Πίνακας 6.27: Αποτελέσματα μέτα-ανάλυσης σε σχέση με την ισορροπία.

Study	ES	[95% Conf. Interval]		% Weight	
-----+-----					
Lopez-Bermejo A (2003)	12.000	0.447	23.553	13.59	
Lopes C (2003)	-18.750	-44.551	7.051	3.95	
Sub-total					
D+L pooled ES	-1.122	-30.932	28.687	17.54	
-----+-----					
1					
Kinik ST (2005)	-5.050	-39.478	29.378	2.33	
Lopes C (2003)	9.800	-1.154	20.754	14.49	
Sub-total					
D+L pooled ES	8.435	-2.003	18.873	16.82	
-----+-----					
0					
Testa R (2004)	4.490	-3.691	12.671	19.56	
Kitamura Y (2004)	8.310	-9.161	25.781	7.60	
Estell's A (2001)	-0.530	-27.065	26.005	3.76	
Brown NJ (2001)	19.450	11.293	27.607	19.61	
Brown NJ (2001)	2.820	-21.257	26.897	4.46	
van Harmelen V (2000)	-2.120	-37.709	33.469	2.19	
Cesari M (1999)	5.430	-10.886	21.746	8.45	
Sub-total					
D+L pooled ES	8.854	2.049	15.658	65.64	
-----+-----					
Overall					
D+L pooled ES	8.035	2.590	13.479	100.00	
-----+-----					
Test(s) of heterogeneity:					
	Heterogeneity statistic	degrees of freedom	P	I-squared**	Tau-squared
.	4.55	1	0.033	78.0%	368.7675
1	0.65	1	0.420	0.0%	0.0000
0	8.63	6	0.196	30.5%	23.4055
Overall	14.13	10	0.167	29.2%	22.0242

Στις μέτα-αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν σε σχέση με τη κατηγορία υπερτασικών και διαβητικών βρέθηκε συσχέτιση του γονιδίου με την ινσουλίνη (βλέπε εικόνα 30 & πίνακα 6.28). Τα αποτελέσματα για την ετερογένεια είναι ίδια και για τις δύο μέτα-αναλύσεις. Πιο συγκεκριμένα, λόγω της τιμής του p-value που είναι μεγαλύτερο από 0.05 και του I-squared που είναι μικρότερο από 50%, δεν υπάρχει ετερογένεια.

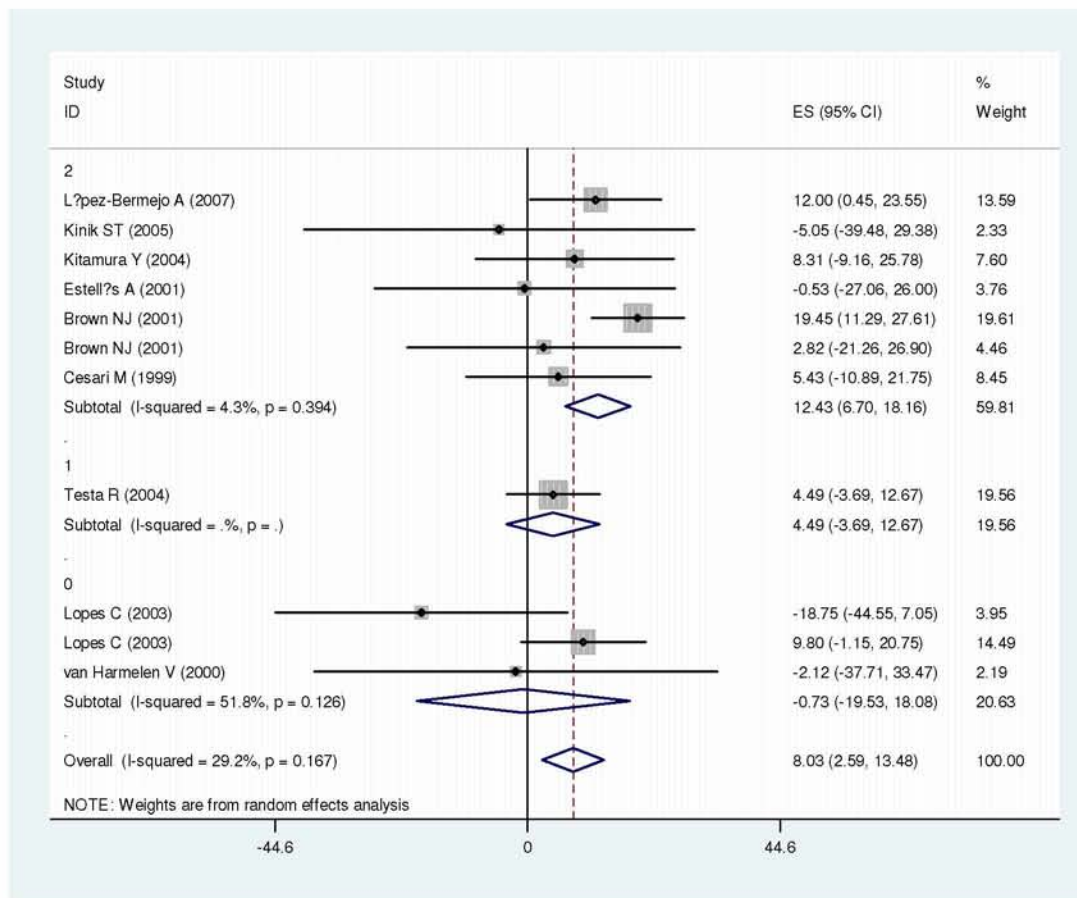
Πίνακας 6.28: Αποτελέσματα μέτα-ανάλυσης σε σχέση με τη κατηγορία υπερτασικών.

Study	ES	[95% Conf. Interval]		% Weight
-----+-----				
2				
Lopez-Bermejo A (2003)	12.000	0.447	23.553	13.59
Kinik ST (2005)	-5.050	-39.478	29.378	2.33
Testa R (2004)	4.490	-3.691	12.671	19.56
Kitamura Y (2004)	8.310	-9.161	25.781	7.60
Lopes C (2003)	-18.750	-44.551	7.051	3.95
Lopes C (2003)	9.800	-1.154	20.754	14.49
Estell's A (2001)	-0.530	-27.065	26.005	3.76
Brown NJ (2001)	19.450	11.293	27.607	19.61
Brown NJ (2001)	2.820	-21.257	26.897	4.46
Cesari M (1999)	5.430	-10.886	21.746	8.45
Sub-total				
D+L pooled ES	8.124	2.443	13.805	97.81
-----+-----				
0				

van Harmelen V (2000		-2.120	-37.709	33.469	2.19
Sub-total					
D+L pooled ES		-2.120	-37.709	33.469	2.19

Overall					
D+L pooled ES		8.035	2.590	13.479	100.00

Test(s) of heterogeneity:					
		Heterogeneity statistic	degrees of freedom	P	I-squared**
2		13.73	9	0.132	34.5%
0		0.00	0	.	0.0000
Overall		14.13	10	0.167	29.2%



Εικόνα 30: Αποτελέσματα μέτα-ανάλυσης σε σχέση με τη κατηγορία διαβητικών.

6.4.2) Αποτελέσματα για το σφάλμα δημοσίευσης:

Για την σύγκριση του 4G/5G+5G/5G έναντι του 4G/4G:
metabias b3 se_b3, graph(begg)

Πίνακας 6.29: Αποτελέσματα για το συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης.
Tests for Publication Bias
Begg's Test

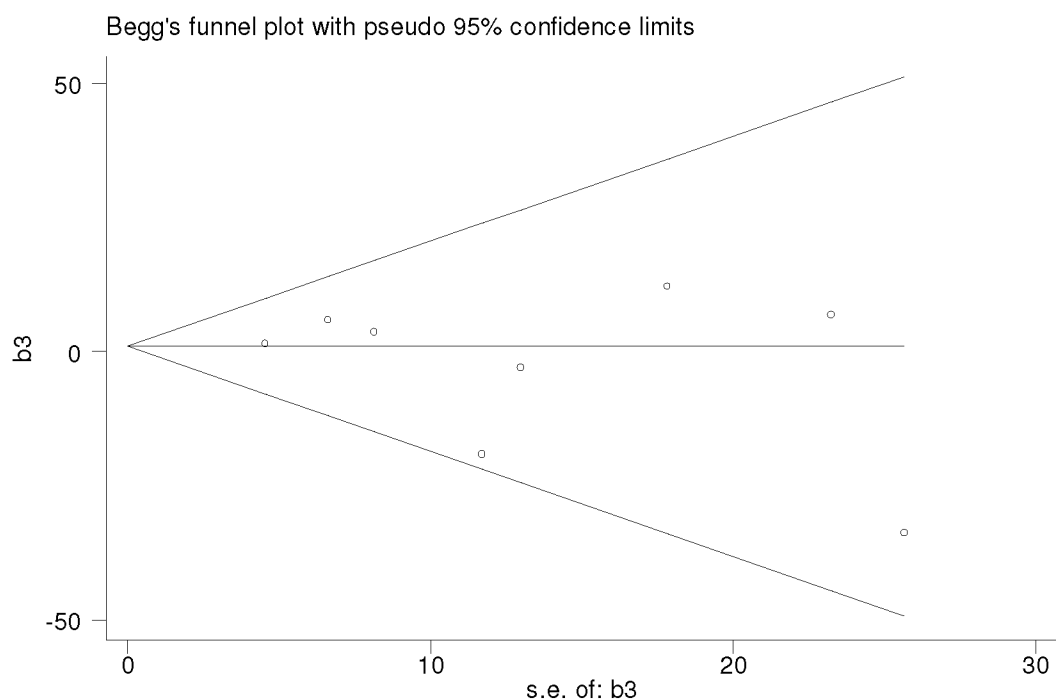
```

adj. Kendall's Score (P-Q) =      -6
Std. Dev. of Score =      8.08
Number of Studies =      8
      z =      -0.74
Pr > |z| =      0.458
      z =      0.62 (continuity corrected)
Pr > |z| =      0.536 (continuity corrected)

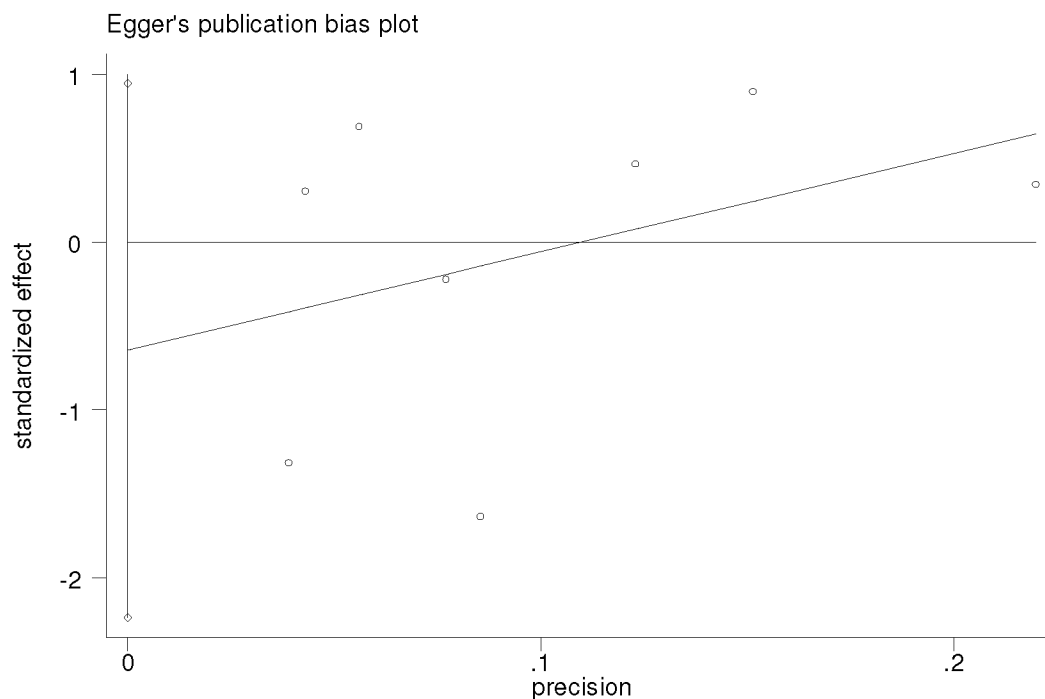
```

Egger's test

Std_Eff	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
slope	5.863081	5.643361	1.04	0.339	-7.945725
bias	-.6441836	.6498434	-0.99	0.360	-2.234293



Εικόνα 31: Γράφημα του Begg.



Εικόνα 32: Γράφημα του Egger.

Από το πίνακα 6.29 και τις εικόνες 31 και 32, μπορούμε να αποφανθούμε ότι δεν υπάρχει συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης.

Για την σύγκριση του 4G/5G+4G/4G έναντι του 5G/5G:

`metabias b4 se_b4, graph(begg)`

Πίνακας 6.30: Αποτελέσματα για το συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης.

Tests for Publication Bias

Begg's Test

```

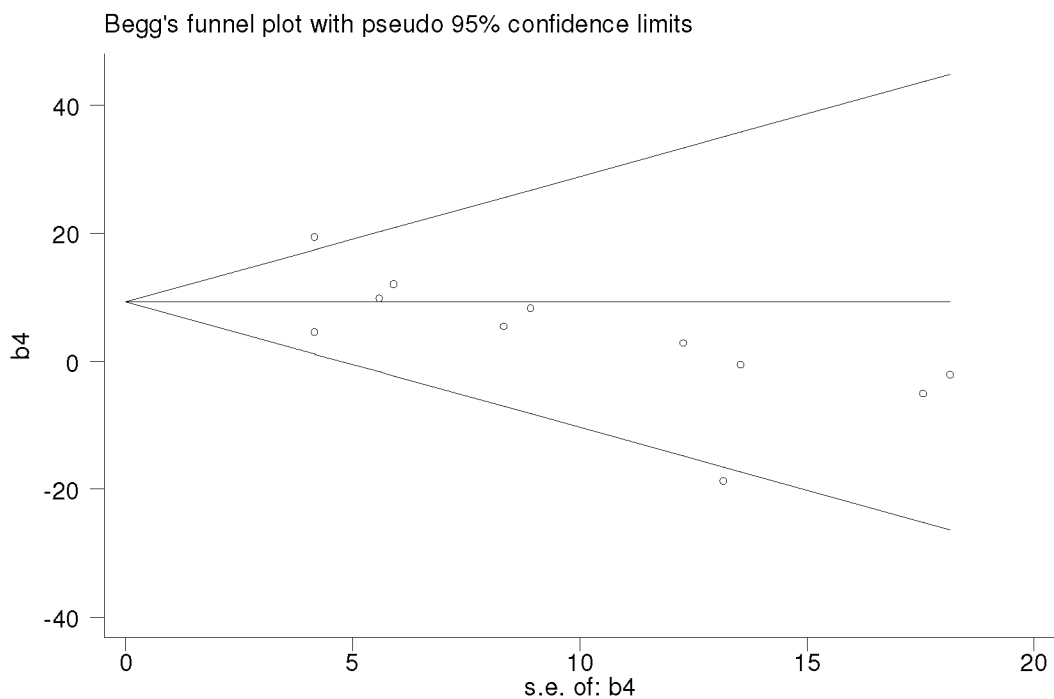
adj. Kendall's Score (P-Q) =    -25
  Std. Dev. of Score =    12.85
  Number of Studies =      11
           z =    -1.95
    Pr > |z| =    0.052
           z =    1.87 (continuity corrected)
    Pr > |z| =    0.062 (continuity corrected)

```

Egger's test

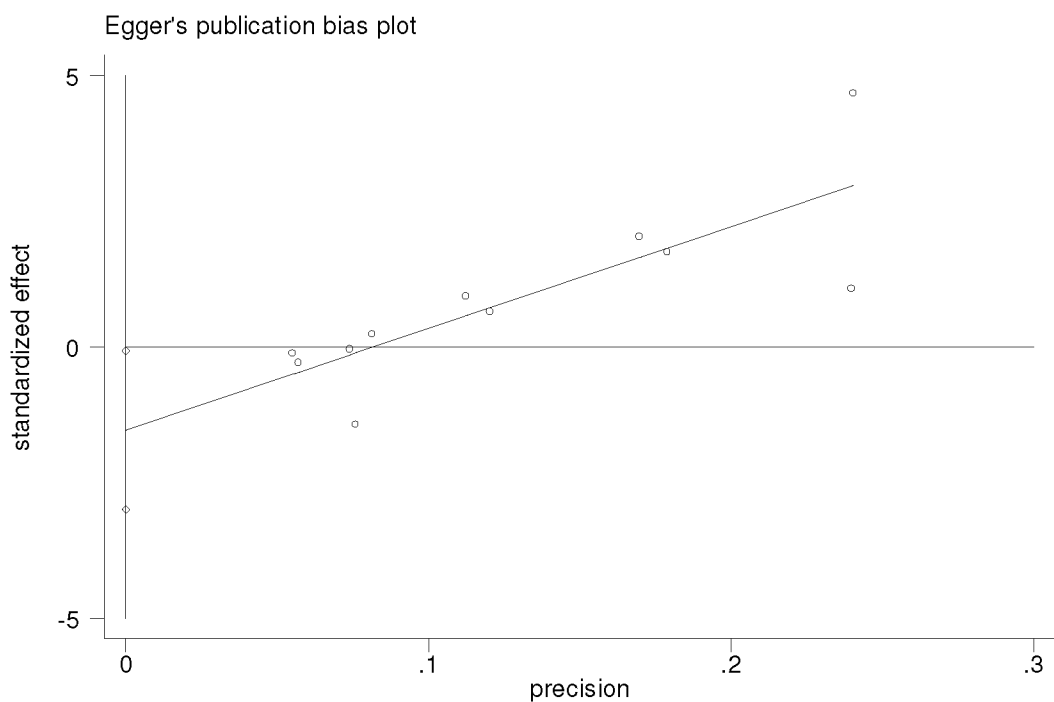
Std_Eff	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]
slope	18.73509	4.495956	4.17	0.002	8.564526
bias	-1.528996	.6459564	-2.37	0.042	-2.99025 -

.0677407



Εικόνα 33: Γράφημα του Begg.

Σε αντίθετη περίπτωση με το επικρατές γονίδιο, στο υπολειπόμενο γονίδιο υπάρχει συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης. Αυτό μπορεί να διαπιστωθεί και από την εικόνα 33 στην οποία οι μελέτες δεν είναι συμμετρικά καταναμμημένες στο διάστημα εμπιστοσύνης.



Εικόνα 34: Γράφημα του Egger.

6.4.3) Αποτελέσματα για το «φαινόμενο του Πρωτέα»:

Για την σύγκριση του 4G/5G+5G/5G έναντι του 4G/4G:

```
sort year
metatrend b3 se_b3
```

Πίνακας 6.31: Πίνακας με τα αποτελέσματα για τον έλεγχο της ύπαρξης του φαινομένου του Πρωτέα.

Tests for detecting trends in cumulative meta-analysis

Number of studies: 8

'First vs. Subsequent' method

	Effect Size (ES)	P-value	[95% Conf. Interval]
First study	42.5211	0.645	0.0000 3.6e+08
Subsequent studies	1.7977	0.860	0.0027 1.2e+03
All Studies	2.8216	0.735	0.0069 1.2e+03

Test for the equality of the ESs

Ho: ES(first) = ES(subsequent)

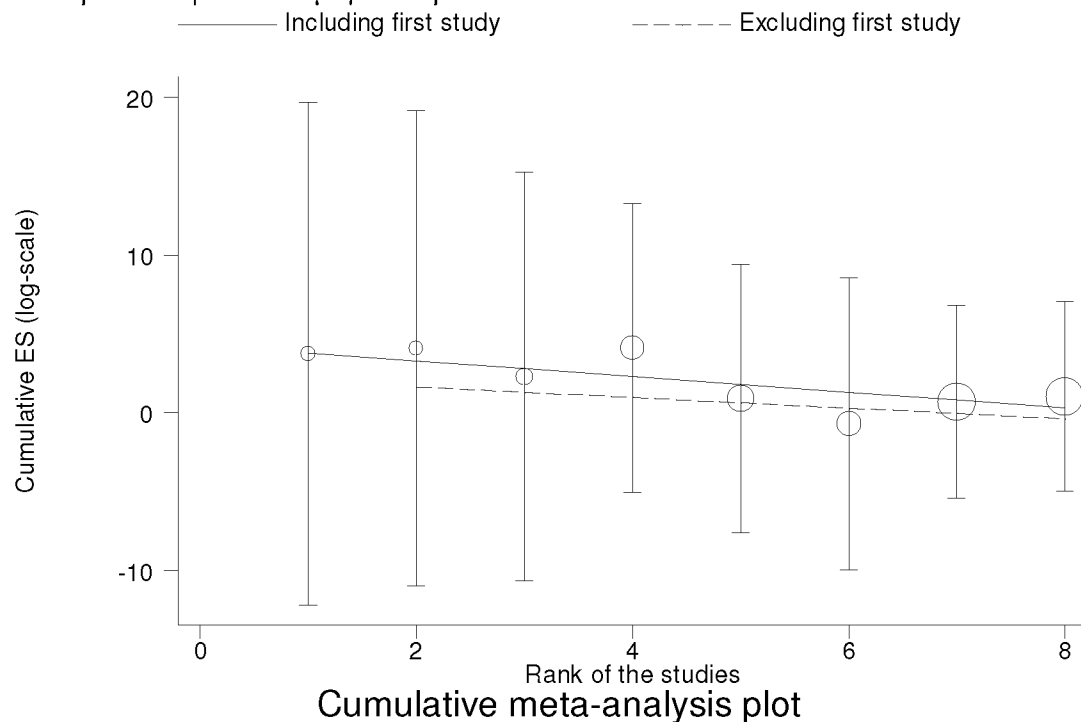
z-value = 0.360

P-value = 0.719

Generalized Least Squares (GLS) Regression-based test

	Coef.	Std. Err.	P-value	[95% Conf. Interval]
rho				
Including all studies	-0.49702	0.18036	0.006	-0.85052 -0.14353
Excluding first study	-0.33653	0.45583	0.460	-1.22996 0.55690

Από τη τιμή του p-value (πίνακας 6.31) συμπεραίνουμε ότι δεν υπάρχει φαινόμενο του Πρωτέα αφού είναι μεγαλύτερο από 0.05.



Εικόνα 35: Αποτελέσματα αθροιστικής μέτα-ανάλυσης.

Για την σύγκριση του 4G/5G+4G/4G έναντι του 5G/5G:

metatrend b4 se_b4

Πίνακας 216.32: Πίνακας με τα αποτελέσματα για τον έλεγχο της ύπαρξης του φαινομένου του Προτέα.
Tests for detecting trends in cumulative meta-analysis

Number of studies: 11

'First vs. Subsequent' method

	Effect Size (ES)	P-value	[95% Conf. Interval]
First study	228.1493	0.514	0.0000 2.8e+09
Subsequent studies	2998.2528	0.009	7.3386 1.2e+06
All Studies	3086.0236	0.004	13.3334 7.1e+05

Test for the equality of the ESs

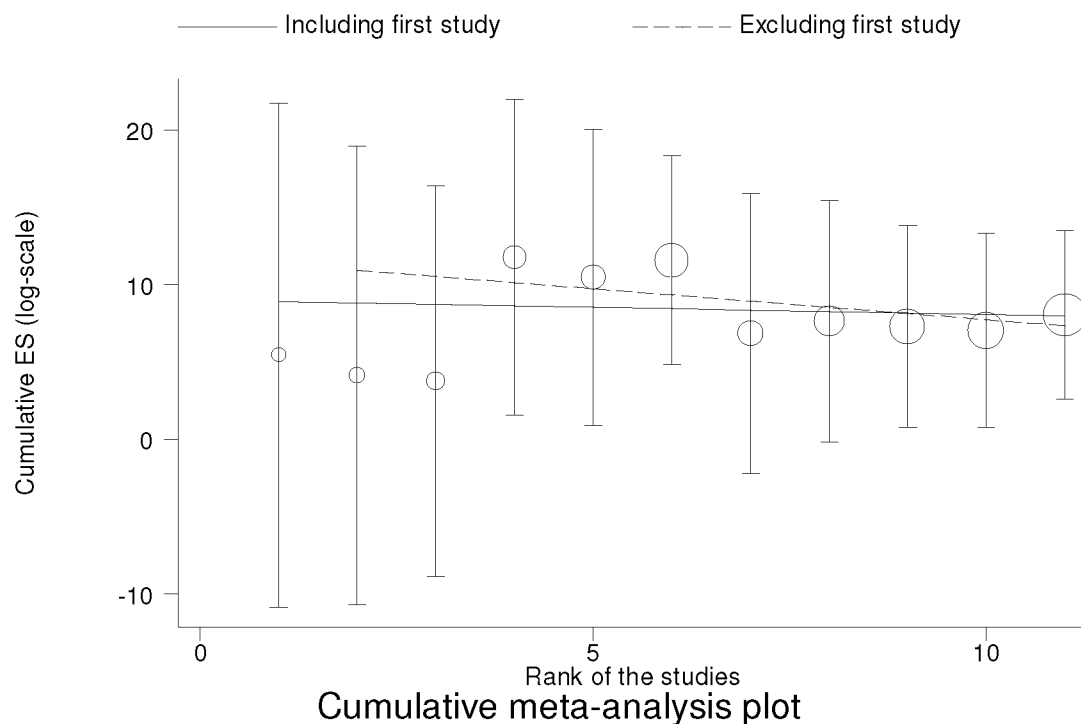
Ho: ES(first) = ES(subsequent)

z-value = -0.290

P-value = 0.772

Generalized Least Squares (GLS) Regression-based test

	Coef.	Std. Err.	P-value	[95% Conf. Interval]
rho				
Including all studies	-0.09339	0.27031	0.730	-0.62320 0.43642
0.260				
Excluding first study	-0.39979	0.34551	0.247	-1.07700 0.27742
0.107				



Εικόνα 36: Αποτελέσματα αθροιστικής μέτα-ανάλυσης.

Τα αποτελέσματα και σε αυτή τη περίπτωση είναι όμοια με τα παραπάνω.

6.5) Αποτελέσματα ελέγχου για την ισορροπία Hardy-Weinberg:

Για να υπάρχει ισορροπία HWE πρέπει η τιμή του p-value να είναι μεγαλύτερη από 0.05. Παρακάτω φαίνονται οι πίνακες των αποτελεσμάτων για την ύπαρξη ή όχι ισορροπίας HWE.

Στη περίπτωση του διαβήτη η εξέταση της ισορροπίας HWE εμφάνισε τρεις μελέτες σε απόκλιση.

Πίνακας 6.33: Στον πίνακα φαίνεται από την τιμή του p-value η μελέτη βρίσκεται σε ισορροπία Hardy-Weinberg.

genhwi	123	253	148
Genotype		Observed	Expected
AA	123	118.80	
Aa	253	261.40	
aa	148	143.80	
total	524	524.00	
Allele	Observed	Frequency	Std. Err.
A	499	0.4761	0.0157
a	549	0.5239	0.0157
total	1048	1.0000	

Estimated disequilibrium coefficient (D) = 0.0080

Hardy-Weinberg Equilibrium Test:

Pearson chi2 (1) =	0.542	Pr= 0.4618
likelihood-ratio chi2 (1) =	0.542	Pr= 0.4618
Exact significance prob =		0.4836

Παρατηρούμε ότι το p-value (πίνακας 6.33) είναι μεγαλύτερο από 0.05 και επίσης το Estimated disequilibrium coefficient (0.0080) είναι πάρα πολύ μικρό άρα υπάρχει ισορροπία στη συγκεκριμένη μελέτη. Πιο κάτω φαίνεται το αποτέλεσμα για την μελέτη που εμφανίζει απόκλιση.

Πίνακας 226.34: Στον πίνακα φαίνεται από την τιμή του p-value η μελέτη δεν βρίσκεται σε ισορροπία Hardy-Weinberg.

genhwi	63	95	81
Genotype		Observed	Expected
AA	63	51.09	
Aa	95	118.82	
aa	81	69.09	
total	239	239.00	
Allele	Observed	Frequency	Std. Err.
A	221	0.4623	0.0250
a	257	0.5377	0.0250
total	478	1.0000	

Estimated disequilibrium coefficient (D) = 0.0498

Hardy-Weinberg Equilibrium Test:

Pearson chi2 (1) =	9.607	Pr= 0.0019
likelihood-ratio chi2 (1) =	9.660	Pr= 0.0019
Exact significance prob =		0.0019

Παρατηρούμε ότι το p-value (πίνακας 6.34) είναι μικρότερο από 0.05, συνεπώς υπάρχει ανισορροπία σε αυτή τη μελέτη.

Για τη περίπτωση της γλυκόζης, κατά την εξέταση της ισορροπίας 4 μελέτες δεν ήταν σε ισορροπία. Παρακάτω φαίνεται ένα παράδειγμα και τη περίπτωση της ανισορροπίας (πίνακας 6.36) αλλά και της ισορροπίας (πίνακας 6.35).

Πίνακας236.35: Στον πίνακα φαίνεται από την τιμή του p-value η μελέτη βρίσκεται σε ισορροπία Hardy-Weinberg.

genhw1	11	31	12	
Genotype	Observed		Expected	
AA	11		13.00	
Aa	31		26.99	
aa	12		14.00	
total	54		54.00	
Allele	Observed	Frequency	Std. Err.	
A	53	0.4907	0.0444	
a	55	0.5093	0.0444	
total	108	1.0000		

Estimated disequilibrium coefficient (D) = -0.0371

Hardy-Weinberg Equilibrium Test:

Pearson chi2 (1) =	1.191	Pr=	0.2750
likelihood-ratio chi2 (1) =	1.196	Pr=	0.2741
Exact significance prob =			0.4132

Πίνακας246.36: Στον πίνακα φαίνεται από την τιμή του p-value η μελέτη δεν βρίσκεται σε ισορροπία Hardy-Weinberg.

genhw1	25	27	24	
Genotype	Observed		Expected	
AA	25		19.50	
Aa	27		37.99	
aa	24		18.50	
total	76		76.00	
Allele	Observed	Frequency	Std. Err.	
A	77	0.5066	0.0460	
a	75	0.4934	0.0460	
total	152	1.0000		
Estimated disequilibrium coefficient (D) = 0.0723				
Hardy-Weinberg Equilibrium Test:				
Pearson chi2 (1) =		6.363	Pr=	0.0117
likelihood-ratio chi2 (1) =		6.455	Pr=	0.0111
Exact significance prob =				0.0121

Παρατηρούμε ότι το p-value είναι μικρότερο από 0.05 άρα η παρούσα μελέτη δεν είναι σε ισορροπία.

Τέλος στη περίπτωση της ινσουλίνης δύο μόνο μελέτες απέκλιναν από την ισορροπία.

Πίνακας6.37: Στον πίνακα φαίνεται από την τιμή του p-value η μελέτη βρίσκεται σε ισορροπία Hardy-Weinberg.

genhw1	16	27	7	
Genotype	Observed		Expected	
AA	16		17.40	
Aa	27		24.19	
aa	7		8.40	
total	50		50.00	
Allele	Observed	Frequency	Std. Err.	
A	59	0.5900	0.0462	
a	41	0.4100	0.0462	
total	100	1.0000		
Estimated disequilibrium coefficient (D) = -0.0281				
Hardy-Weinberg Equilibrium Test:				
Pearson chi2 (1) =	0.675	Pr=	0.4114	
likelihood-ratio chi2 (1) =	0.680	Pr=	0.4095	
Exact significance prob =			0.5608	

Πίνακας6.38: Στον πίνακα φαίνεται από την τιμή του p-value η μελέτη δεν βρίσκεται σε ισορροπία Hardy-Weinberg.

genhw1	61	50	30	
Genotype	Observed		Expected	
AA	61		52.45	
Aa	50		67.09	
aa	30		21.45	
total	141		141.00	

Allele	Observed	Frequency	Std. Err.
A	172	0.6099	0.0325
a	110	0.3901	0.0325
total	282	1.0000	

Estimated disequilibrium coefficient (D) = 0.0606

Hardy-Weinberg Equilibrium Test:

Pearson chi2 (1) =	9.151	Pr=	0.0025
likelihood-ratio chi2 (1) =	9.128	Pr=	0.0025
Exact significance prob =			0.0026

Η τιμή του p-value είναι $0.002 < 0.05$ άρα η μελέτη δεν βρίσκεται σε ισορροπία.

